

APPUNTI DI MICROBIOLOGIA

Giordano Perin

a.a. 2009/2010



INTRODUZIONE:

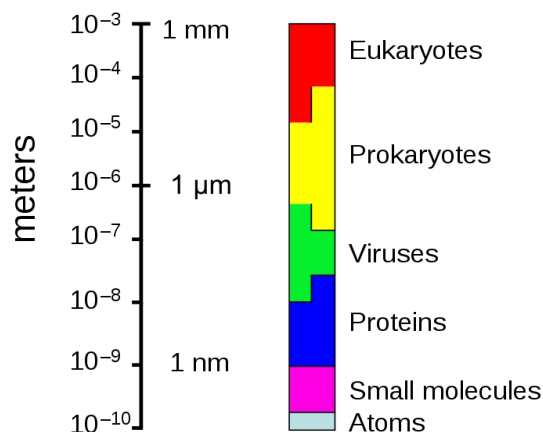
Con il termine microorganismo si intende in realtà indicare una enorme quantità di organismi facenti parte di diverse categorie e soprattutto molto diversi tra loro ACCOMUNATI UNICAMENTE PER LA DIMENSIONE INFINITESIMALE CHE LI CARATTERIZZA. A tale categoria appartengono:

- VIRUS.
- BATTERI.
- FUNGHI.
- PROTOZOI.

possiamo dividere i microorganismi cellulari fondamentalmente in due grandi categorie:

1. PROCARIOTI: si tratta di organismi che presentano un NUCLEO NON DEFINITO e il materiale genetico si colloca in diverse parti della cellula.
2. EUCARIOTI: si tratta di organismi che presentano un NUCLEO BEN DEFINITO e un genoma maggiormente complesso.

LE DIMENSIONI DI QUESTI MICROORGANISMI SONO:



- al di sotto in ogni caso della soglia della vista.
- al MICROSCOPIO OTTICO con un ingrandimento di 1000 volte possiamo vedere:
 - funghi.
 - protozoi.
 - batteri.
- al MICROSCOPIO ELETTRONICO possiamo infine vedere i VIRUS.

01-MICROBIOLOGIA NORMALE

I BATTERI

Si tratta degli organismi unicellulari più comuni in natura, tali cellule sono caratterizzate da forme diverse, possiamo dire che morfologicamente distinguiamo:

- COCCHI cellule sferiche.
- BASTONCINI.
- SPIRILLI spiraliformi rigidi.
- SPIROCHETE dalla forma a spirale ma flessibili.

cocchi e bastoncini sono i batteri più diffusi, le spirochete e gli spirilli sono molto meno presenti¹. Esistono in ogni caso numerose diverse categorie morfologiche più o meno comuni che, a livello di dimensioni, possono essere molto differenti.

DIFFERENZE TRA CELLULE PROCARIOTICHE (batteri) E CELLULE EUCARIOTICHE:

Un antibiotico è una sostanza capace di uccidere il batterio senza ledere al paziente e alle cellule del suo organismo, la possibilità di agire in questo modo è legata alla differenza morfologica e fisiologica tra le cellule PRO ed EU CARIOTICHE; ricordiamo in particolare che:

UNA CELLULA PROCARIOTICA:

- presenta nucleo non definito e un unico cromosoma.
- ha una membrana citoplasmatica rivestita da una PARETE CELLULARE; in realtà fanno eccezione i MICOPLASMI che non presentano tale parete.
- il DNA spesso è organizzato in plasmidi.
- Presentano RIBOSOMI 70s che si collocano nel citoplasma.

CELLULA EUCARIOTICA:

- ha un nucleo ben definito contenente diversi cromosomi.
- ha una membrana citoplasmatica che rappresenta il limite tra la cellula e l'ambiente esterno.
- il DNA si colloca in organelli interni alla cellula.
- Presentano RIBOSOMI 80s che si collocano associati al reticolo endoplasmatico.

LE DIFFERENZE tra i due tipi di cellule sono alla base della funzionalità selettiva del farmaco:

- LA STRUTTURA ESTERNA dei due tipi di cellule presenta delle differenze la cui presenza è alla base della capacità di attacco da parte di molecole antibiotiche².
- LA STREPTOMICINA, il secondo antibiotico utilizzato, attacca i ribosomi batterici impedendo la sintesi proteica.

LA STRUTTURA DEL BATTERIO:

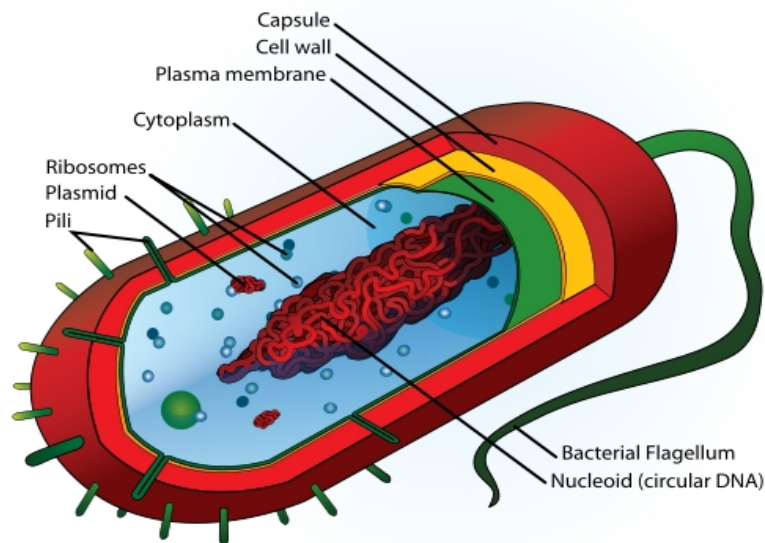
i batteri strutturalmente si possono dividere in GRAM POSITIVI E GRAM NEGATIVI sulla base di alcune differenze strutturali fondamentali, in linea generale possiamo

¹ noi conviviamo costantemente con batteri saprofiti, tali batteri svolgono delle funzioni fondamentali tra cui LA PRODUZIONE E LA STIMOLAZIONE ALL'ASSORBIMENTO DI VITAMINE.

² Questo è tanto vero che per esempio gli ANTIFUNGINI riconoscono degli STEROLI che si trovano sulle membrane dei funghi e li attaccano, tali steroli NON SI TROVANO A LIVELLO delle MEMBRANE DEI BATTERI sulle quali appunto l'antifungino non funziona.

dire che:

- i batteri sono isolati dall'ambiente esterno per la presenza di:
 - membrana plasmatica rivestita di
 - parete cellulare al di fuori della quale si può trovare
 - una capsula batterica.
- un batterio può presentare inoltre:
 - fibrie o pili.
 - flagelli.
- all'interno della cellula si colloca il cromosoma circolare del batterio immerso nel citoplasma.



possiamo individuare tra le strutture che caratterizzano il batterio alcune componenti FONDAMENTALI e alcune componenti FACOLTATIVE dove le prime sono i bersagli tipici degli antibiotici.

- Le COMPONENTI ESSENZIALI sono:
 - la parete cellulare (caratteristica del batterio ma non dei micoplasmi).
 - la membrana plasmatica.
 - il citoplasma, che deve essere isolato.
 - area nucleare, che interessa in particolare antibiotici che agiscono sul DNA del batterio.
 - ribosomi.
- COMPONENTI FACOLTATIVE:
 - la capsula batterica: si tratta di una componente facoltativa, alcuni batteri, quindi, non la presentano; si tratta in ogni caso di una componente molto significativa: la presenza della capsula dà al batterio una notevole capacità di adesione, tale struttura presenta inoltre una elevata attività antifagocitica³.
 - i FLAGELLI.
 - le FIMBRIE: sono essenziali soprattutto per la ADESIONE ALLE MUCOSE

³ Lo pneumococco capsulato è letale per il topo, nel momento in cui lo pneumococco sia privo di capsula, non è letale e neanche particolarmente virulento.

DELL'ORGANISMO OSPITE.

- i PLASMIDI che sono dei segmenti di DNA circolari.
- le INCLUSIONI.

LE COMPONENTI ESSENZIALI:

LA PARETE BATTERICA:

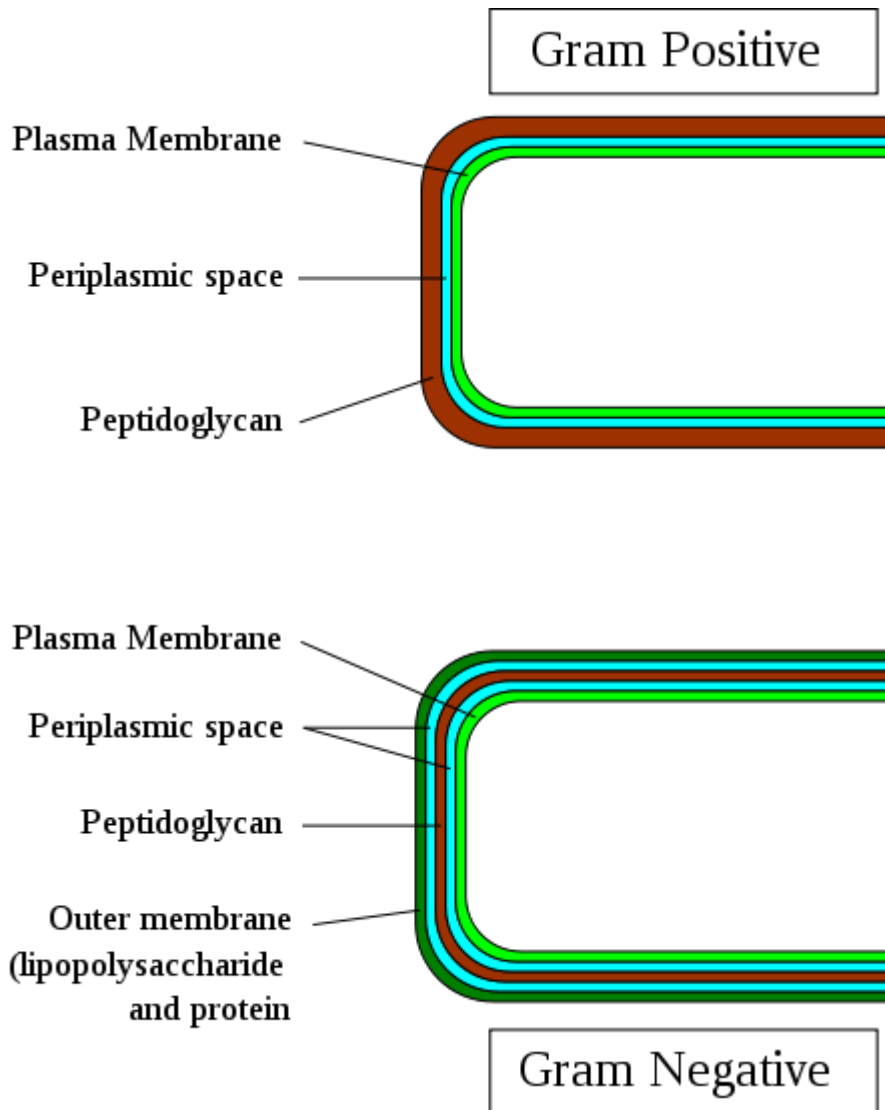
SI TRATTA DELLA STRUTTURA GENERALMENTE PIÙ ESTERNA NEL BATTERIO (a meno che non sia presente la capsula) è caratteristica di tutti i batteri eccetto i MICOPLASMI; ha la funzione di:

- CONFERIRE FORMA AL BATTERIO: si tratta di una struttura RIGIDA e ROBUSTA.
- DETERMINARE LE PROPRIETÀ TINTORIALI DEL BATTERIO: si distinguono i batteri in gram+ e gram- per la diversa struttura della PARETE BATTERICA.
- PROTEGGE LA CELLULA DALLA IPERTONICITÀ CITOPLOSMATICA: la parete è un involucro estremamente robusto che protegge la cellula batterica dagli effetti della ipertonicità dell'ambiente intracellulare che attirerebbe acqua provocandone la lisi. Alterando la integrità strutturale di tale membrana GLI ANTIBIOTICI PORTANO ALLO SCOPPIO DELLA CELLULA.
- PROTEGGE LA CELLULA DAGLI INSULTI MECCANICI.
- SVOLGE UNA FUNZIONE DI BARRIERA.
- SVOLGE FUNZIONI FONDAMENTALI NELLE MALATTIE DA INFEZIONE.

LE PARETI DI CELLULARI DEI BATTERI GRAM POSITIVI e NEGATIVI:

si tratta di pareti dalla complessità decisamente differente, possiamo dire che in entrambe le pareti è presente, come componente fondamentale, il PEPTIDOGLICANO ma questo:

- costituisce la STRAGGRANDE MAGGIORANZA DELLA PARETE DEL GRAM POSITIVO (10-20 strati sovrapposti).
- costituisce una piccola parte DELLA PARETE DEL GRAM NEGATIVO: al di fuori dello strato di PEPTIDOGLICANO (2-3 strati) si colloca infatti la MEMBRANA ESTERNA composta di proteine e di una significativa componente lipidica.



LA COLORAZIONE DI GRAM:

Questa differenza strutturale si traduce in una differenza di colorazione e su tale differenza di colorazione si basa il sistema di classificazione dei batteri in gram positivi e gram negativi. Il processo di colorazione si svolge, a livello tecnico, in questo modo:

- si prepara il campione.
- si colora il campione con un colorante detto CRYSTAL VIOLETTO e si fa riposare per un minuto.
- si riveste il tutto con un MORDENTE detto LIQUIDO DI LUGOL.
- si riveste il campione con un DECOLORANTE CHE REAGISCA IN MODO DIVERSO CON GRAM POSITIVI E NEGATIVI, la differenza strutturale che viene sfruttata è fondamentalmente la COMPOSIZIONE LIPIDICA DELLA MEMBRANA DEI GRAM NEGATIVI e la DIFFERENTE STRUTTURAZIONE DEL PEPTIDOGLICANO CHE COSTITUISCE LA LORO PARETE CELLULARE e per questo si utilizza L'ALCOL in una esposizione per trenta secondi:
 - i GRAM POSITIVI non subiranno modificazioni.

- i GRAM NEGATIVI perderanno la colorazione in crystal violetto.
- si aggiunge un COLORANTE DI CONTRASTO detto FUCSINA che agisce su batteri incolori colorandoli in rosso.

IL PEPTIDOGLICANO:

come accennato si tratta del fattore fondamentale nella costituzione della parete cellulare, in particolare il PEPTIDOGLICANO È UNA GRANDE E COMPLESSA MOLECOLA costituita di glucidi e peptidi organizzata in questo modo:

- UNA COMPONENTE GLUCIDICA che costituisce lo scheletro della molecola, in particolare si tratta di:
 - NAG Nacetil glucosamina.
 - NAM Acido N-acetilmuramico.
- UNA COMPONENTE PEPTIDICA che risulta associata alla componente glucidica, si tratta di un peptide composto di CINQUE AMMINOACIDI.
- LEGAMI CROCIATI fondamentali in quanto collegano tra loro monomeri di file parallele tra loro rendendo la struttura molto robusta.

possiamo quindi definire come MONOMERO una sequenza costituita di una molecola di NAG, una di NAM e quattro amminoacidi.

LA SINTESI DELLA MOLECOLA:

1. viene attivato il NAG formando UDP-NAG.
2. si associa al NAG il FOSFOENOLPIRUVATO grazie alla azione della FOSFOENOL PIRUVIL TRANSFERASI liberando il prodotto combinato cioè UDP-NAG fosfo enol etere.
3. Il composto neoformato diviene substrato di una reduttasi che, sfruttando il NADPH(H⁺) sintetizza UDP NAG ETERE LATTICO.
4. Con la condensazione di una L-alanina si forma il NAM o acido N acetil murammico.

Tale molecola viene trasportata a livello della membrana da un carrier lipidico; giunta a destinazione verrà condensata al polimero già presente. Complessivamente si formano:

- un complesso protettivo di 10-20 strati nei batteri gram positivi.
- Un complesso protettivo di 2-3 strati nei batteri gram negativi.

La FOSFOMICINA è un antibiotico che assomiglia al FOSFOENOLPIRUVATO tanto da divenire substrato DELLA FOSFOENOL PIRUVIL TRANSFERASI formando con l'enzima un legame COVALENTE che NON PUÒ ESSERE SCINTO inattivandolo.

Una volta prodotto il NAM il batterio chiaramente deve produrre il complesso del peptidoglicano, in particolare deve quindi:

- associare NAG a NAM.
- associare a NAM la serie di 5 peptidi:
 - L alanina.
 - L Glutammato.
 - L lisina.
 - D alanina.
 - D alanina.

Di questa serie di cinque amminoacidi il quarto e il quinto sono sicuramente i più importanti sia dal punto di vista ENZIMATICO sia dal punto di vista

FARMACEUTICO: la D alanina in natura non è presente e deve essere ricavata dalla L ALANINA per azione dell'enzima RACEMASI.

A questo punto interviene un secondo enzima, la Dala-Dala SINTASI che svolge due azioni fondamentalmente:

- prende una D alanina e la attacca ad un'altra D alanina formando un DIMERO.
- Preleva il DIMERO e lo associa al disaccaride NAM-NAG.

UN ANTIBIOTICO CAPACE DI AGIRE A QUESTO LIVELLO È LA CICLOSERINA: questo composto, molto simile alla alanina, si innesta sia sulla racemasi che sulla Dala-Dala sintasi divenendone substrato e portando al BLOCCO DELLA ATTIVITÀ ENZIMATICA tramite un legame covalente. La Cicloserina è un antibiotico neurotossico e viene utilizzato soprattutto in caso di tubercolosi resistenti ai farmaci normalmente utilizzati.

- il monomero creato viene a questo punto associato all'UNDECA PRENOL FOSFATO: si tratta di un trasportatore LIPIDICO che trasporta il MONOMERO associandosi ad esso attraverso il dimerio di Dala-Dala, VERSO LA MEMBRANA DELLA CELLULA.

Questa operazione di trasporto può essere inibita tramite la attività di ANTIBIOTICI; risulta possibile:

- IMPEDIRE CHE IL TRASPORTATORE RIESCA A LEGARE IL MONOMERO: la VANCOMICINA⁴, che fa parte degli antibiotici glicopeptidici, si associa al dimerio di D alanina impedendo la sua associazione con il trasportatore. Molecola simile è la TEICoplanina: queste molecole vengono utilizzate per eliminare alcune infezioni particolarmente difficili da debellare.
- IMPEDIRE IL TRASPORTO DEL MONOMERO: antibiotico utile da questo punto di vista è la BACITRACINA; si tratta di un antibiotico tossico, viene utilizzato per infiammazioni locali, non sistemiche (quello che si definisce uso topico) tramite applicazioni locali cutanee o in sede, oppure per os, se il farmaco non viene assorbito, di modo che agisca unicamente a livello della mucosa intestinale; tale molecola agisce sul PROCESSO DI FOSFORILAZIONE E DEFOSFORILAZIONE CHE FORNISCE ENERGIA ALL'UNDECA PRENOL FOSFATO.
- A questo punto è necessario associare il monomero appena creato alla parete cellulare esterna: il batterio deve legare il NAM di un monomero già presente con il NAG del monomero neoformato, TALE OPERAZIONE VIENE SVOLTA DALLA TRANSGLICOSILASI; non esistono al momento antibiotici capaci di agire su questo enzima.
- INTERVIENE UNA CARBOSSIPEPTIDASI che elimina una Dalanina dalla catena amminoacidica.
- INTERVIENE INFINE UNA TRANSPEPTIDASI, essenziale alla formazione di un legame CROCIATO tra il peptide di un monomero e il peptide del monomero della fila vicina; in particolare:
 - DAL TERZO AMMINOACIDO DEL MONOMERO DELLA FILA GIÀ PRESENTE.
 - AL QUARTO AMMINOACIDO DEL MONOMERO NEOINSERITO.

⁴ Questa molecola è conosciuta e presente da molti anni: si tratta di un farmaco non maneggevole, tossico anche, si utilizza un bolo lento di tre ore (per evitare flebiti) ed era poco utilizzato nella pratica medica; quando le infezioni batteriche sono diventate farmacoresistenti si è cominciato a riutilizzare tale farmaco. Con il tempo è stata sviluppata anche una alternativa più somministrabile della vancomicina, la teicoplanina, MA IN POCHI MESI COMINCIARONO AD EMERGERE BATTERI RESISTENTI A TALE MOLECOLA IN QUANTO SOSTITUIRONO LA D-ALANINA CON UNA MOLECOLA DI ACIDO LATTICO.

Lo studio della azione degli antibiotici della classe dei BETA LATTAMICI si deve a Brian Spread, egli in particolare:

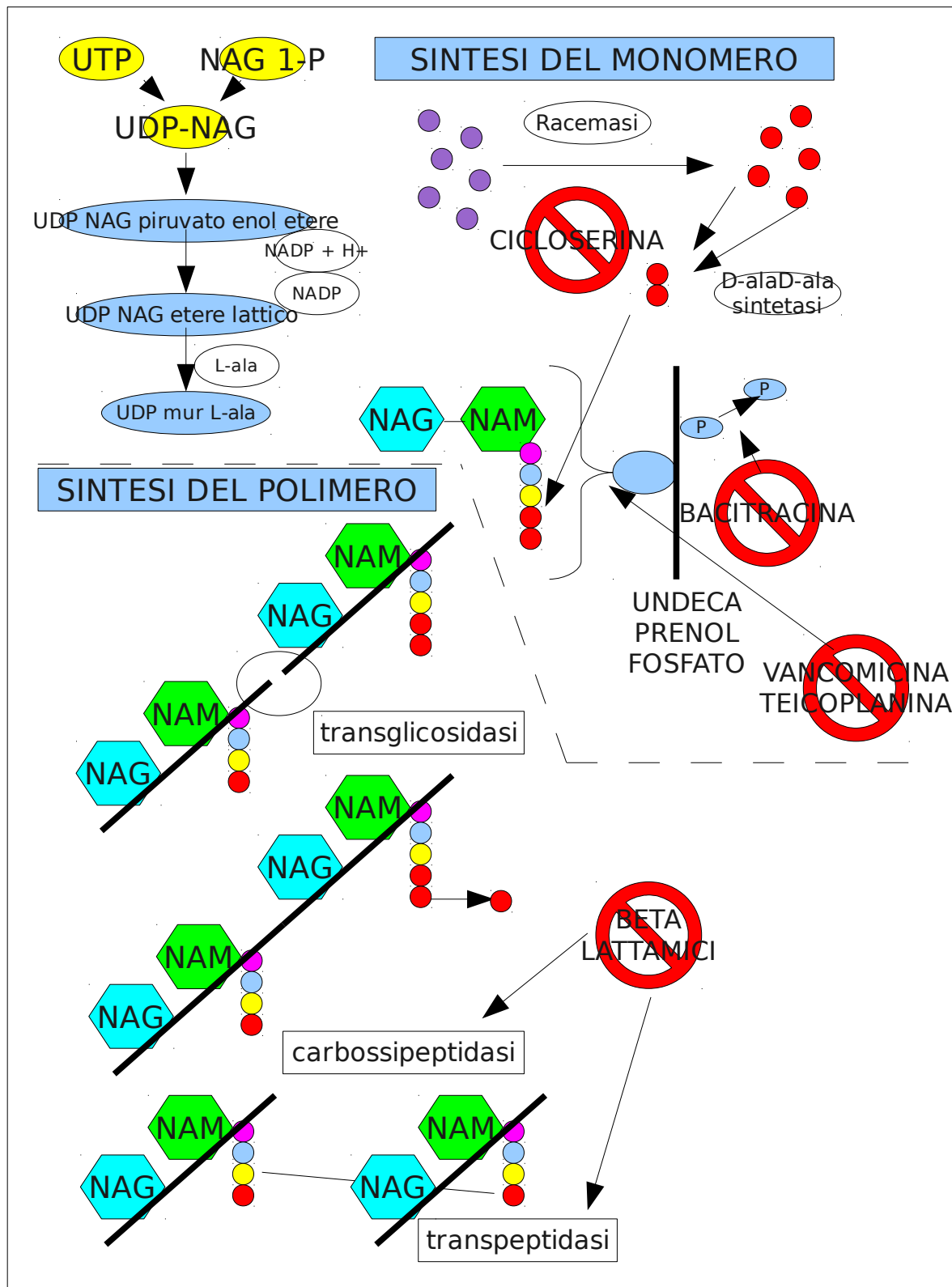
- ◆ isolò le proteine di una membrana batterica.
- ◆ fece una elettroforesi.
- ◆ Esegui una seconda volta la medesima operazione, ma aggiungendo al complesso proteico una penicillina radioattiva, marcata con trizio.
- ◆ fece una elettroforesi.
- ◆ seccò la piastra elettroforetica.
- ◆ Fece una autoradiografia.

INDIVIDUÒ QUINDI LE PROTEINE MARCATE COME I BERSAGLI MOLECOLARI DELLA PENICILLINA; si scoprì quindi tramite analisi più approfondite che:

- la formazione dei legami crociati è data dalle PENICILIN BP.
- le PENICILIN BP sono enzimi con capacità carbossipeptidasica e transpeptidasica.
- la PENICILIN BP sono il bersaglio molecolare dei BETA LATTAMICI.

analizzando la serie di proteine batteriche che rientrano nel complesso delle PENICILIN BP, per esempio un escherichia coli, è possibile notare che ve ne è una grande quantità: ATTRAVERSO ANALISI DIVERSE SCOPRIAMO CHE LE PENICILLIN BINDING PROTEIN SONO MOLTE IN QUANTO AGISCONO IN MOMENTI E LUOGHI DIVERSI ma sempre nella sintesi della parete cellulare⁵.

⁵ Questo è tanto vero che bloccando la sintesi di alcune delle proteine che si occupano della sintesi dei legami crociati, da una forma a bastoncino possiamo ottenere un batterio a forma di cocco.



LA PARETE DEI BATTERI GRAM NEGATIVI:

strutturalmente per quanto riguarda questo tipo di parete, partendo dall'interno, possiamo individuare:

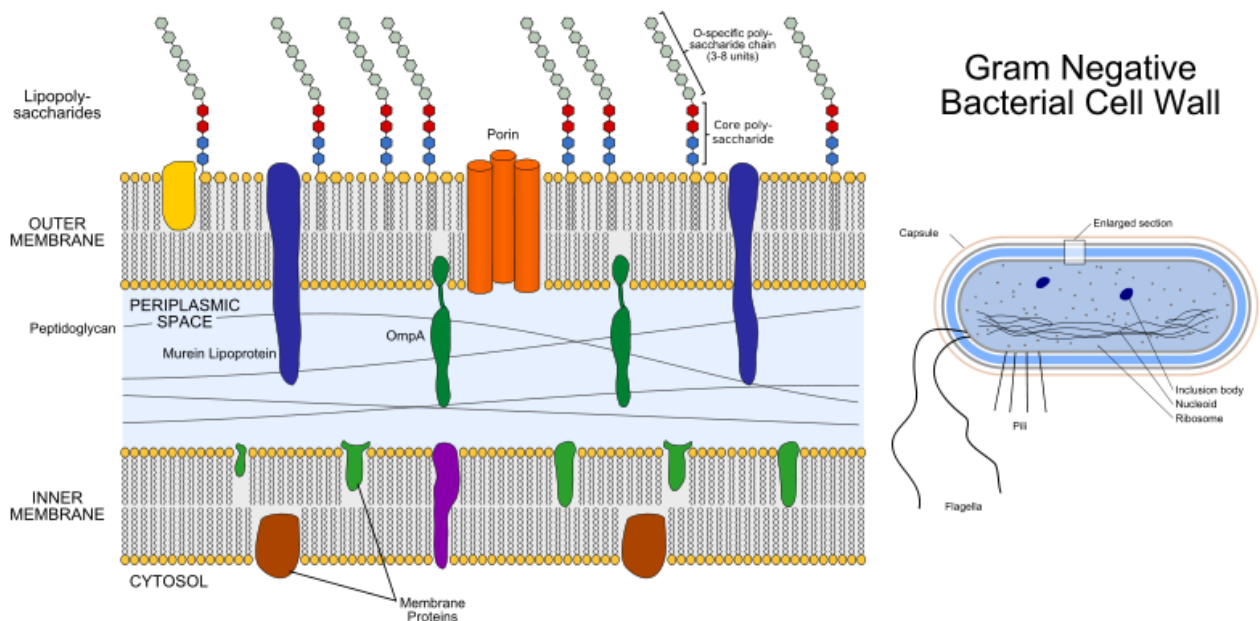
- la membrana citoplasmatica.
 - lo spazio PERIPLASMICO: si tratta dello spazio nel quale la cellula accumula componenti e molecole⁶. Questo spazio si può estendere da 1 a 70nm e può arrivare a rappresentare anche il 30-40% dell'intero volume cellulare.
 - Una barriera di PEPTIDOGLICANO che, come sappiamo, è formata di due o tre strati per uno spessore di 2-7nm.
 - LA MEMBRANA ESTERNA che viene FORTEMENTE ANCORATA AGLI STRATI SOTTOSTANTI da LIPOPROTEINE, dette lipoproteine di brown, che associandosi dal peptidoglicano vanno a inserirsi tra le teste lipidiche della membrana esterna. La membrana esterna presenta una struttura ASIMMETRICA, non simmetrica come la membrana interna, risulta infatti composta di:
 - uno strato INTERNO DI FOSFOLIPIDI.
 - uno strato ESTERNO di LPS o LIPOPOLISACCARIDE; questa molecola è composta di:
 - una PARTE LIPIDICA CONSISTENTE: si tratta della PARTE TOSSICA DELLA MOLECOLA che viene detta ENDOTOSSINA.
 - una PARTE POLISACCARIDICA ESTERNA che a sua volta si divide in:
 - CORE che è uguale per tutti i batteri.
 - PARTE TERMINALE che differisce da specie a specie.
- SI TRATTA DELL'ANTIGENE SOMATICO, quello che cioè viene percepito dai leucociti.

ALTRE COMPONENTI caratteristiche della membrana esterna sono LE PORINE: si tratta di complessi proteici che creano dei pori che rendono possibile il passaggio in entrata e in uscita di sostanze diverse; regolano gli accessi alla cellula. Un batterio può divenire farmaco resistente escludendo il passaggio di antibiotici⁷ da questi pori. La dimensione di questi pori consente il passaggio di molecole fino a 600-700 dalton.

Si individuano dei punti di contatto DIRETTI tra la membrana interna e la membrana esterna di questi batteri.

⁶ uno dei modi per acquisire una farmacoresistenza da parte della cellula batterica è quello di produrre enzimi che MODIFICANO L'ANTIBIOTICO, in particolare per la penicillina i batteri possono produrre delle PENICILLINASI che rompono alcuni legami; se è presente uno spazio periplasmico l'enzima viene messo lì, nel caso in cui non ci sia, viene espulsa. Gram positivi e negativi hanno tattiche diverse: i gram negativi combattono gli antibiotici nello spazio periplasmico, molto vicino al nucleo, mentre i gram positivi la secernono e sono costretti a produrne una quantità estremamente elevata.

⁷ Batterio molto abile nella formazione di farmacoresistenze di questo tipo è sicuramente lo *Pseudomonas Aeruginosa*: si tratta di un microorganismo dalle FARMACORESISTENZE molto consistenti, questi organismi presentano PORINE 100 VOLTE PIÙ STRETTE DEL COLI PER ESEMPIO.



AZIONE DELLA ENDOTOSSINA:

la endotossina come sappiamo è molto tossica, la sua azione si estrinseca fondamentalmente in tre modi:

- **VASODILATAZIONE** tramite la attivazione di **ISTAMINA** **ABBASSANDO LA PRESSIONE EMATICA** E **GENERANDO UNO SHOCK** o collasso.
- **ATTIVAZIONE DEL FATTORE XII DI HAGMAN** coinvolto nei processi di coagulazione; si viene a generare un fenomeno di **COAGULAZIONE INTRAVASCOLARE DISSEMINATA** o **CID⁸**; si formano **TROMBI** e **COAGULI** che viaggiano nel torrente ematico. Tali trombi generano grossi problemi nel momento in cui si formino **EMBOLI PERIFERICI** o **ADDIRITTURA POLMONARI**; ricordiamo in ogni caso che la pericolosità di questo fattore si estrinseca soprattutto nei circoli che non possono dare fenomeni di angiogenesi e anastomosi; a questa categoria appartengono:
 - il circolo della ghiandola surrenale: le cellule della ghiandola surrenale vanno incontro a lisi e liberano una **GRANDE QUANTITÀ DI ORMONI GIÀ CONTENUTI NELLE CELLULE DELLA GHIANDOLA STESSA**. Avremo quindi:
 - un iniziale forte ipercorticosurrenalismo.
 - un successivo ipocorticosurrenalismo.
 si parla di **sindrome di Waterhouse-Friderichsen**.
 - il circolo cerebrale.
- **RILASCIO DI IL1 E TNF** che **INCREMENTANO LA TEMPERATURA CORPOREA**.

Batteri differenti possono poi avere in pratica effetti di natura differente.

Il lipopolisaccaride presenta tuttavia per il batterio diverse funzioni:

1. difensiva rispetto agli agenti esterni.
2. Stabilizzante rispetto alla membrana plasmatica.
3. Da carica negativa alla cellula.

⁸ un soggetto emofilico non coagula, in caso di traumi va incontro ad emorragie imponenti per mancata coagulazione del sangue.

4. Agisce come una endotossina.

LA MEMBRANA CITOPLASMATICA:

anche la membrana citoplasmatica è un elemento fondamentale ed irrinunciabile; per i batteri questa struttura si colloca tra la parete e il citoplasma; strutturalmente è semplicemente un bilayer fosfolipidico, differisce per IL POOL PROTEICO dalle membrane delle cellule eucariotiche: in tale sede, infatti, devono essere concentrate tutte le attività enzimatiche necessarie al metabolismo del batterio⁹.

Una particolarità di queste membrane è IL MESOSOMA; si tratta di un addensamento di membrane che si sovrappongono tra loro formando tale struttura che è fondamentale in quanto rappresenta il PUNTO DI ANCORAGGIO DELL'ACIDO NUCLEICO; fondamentalmente il mesosoma è l'analogo batterico del fuso mitotico delle cellule eucariotiche in quanto consente la separazione del genoma durante la replicazione. Oltre a questo fondamentale compito, il mesosoma:

1. INCREMENTA LA SUPERFICIE DELLA MEMBRANA E QUINDI LE CAPACITÀ METABOLICHE DELLA CELLULA.
2. È SEDE DI PROCESSI OSSIDATIVI.
3. REGOLA LA SECREZIONE DI ESOENZIMI, TOSSINE, POLIMERI.

il mesosoma funziona come una vera e propria guida alla separazione dei due cromosomi in questo modo:

- il mesosoma si replica formando due mesosomi.
- a ciascuno dei due mesosomi si associa un cromosoma.
- viene sintetizzata una grande quantità di membrana tra i due mesosomi.
- i due mesosomi si allontanano tra loro trascinandosi i cromosomi ad essi associati.
- la membrana neoformata si chiude con quella antipodica.
- le due cellule si dividono.

La membrana dei batteri è strutturalmente abbastanza simile a quella delle cellule eucariotiche, esistono tuttavia dei farmaci capaci di agire su di essa, in particolare ricordiamo LE POLIMIXINE: tali farmaci sono abbastanza tossici da necessitare un controllo medico molto stretto durante la somministrazione, si inseriscono infatti sul bilayer fosfolipidico e lo scardinano distruggendolo, attaccando anche membrane fosfolipidiche delle cellule del paziente. Si tratta di un farmaco quindi di ultima scelta. Il più comune sicuramente è il COLISTIN.

Per quanto riguarda altre strutture fondamentali del batterio queste sono abbastanza simili a quelle delle cellule eucariotiche.

LE COMPONENTI FACOLTATIVE:

Si tratta di componenti che possono essere presenti o assenti nei batteri ma la cui importanza è comunque molto alta.

I FLAGELLI:

si tratta di organi di moto che possono essere presenti in quantità molto diversa, in particolare distinguiamo:

- BATTERIO MONOTRICO che presenta un unico flagello, come avviene per il

⁹ Le pareti batteriche sono prive di steroli di conseguenza gli antifungini non sono funzionanti in quanto manca il loro bersaglio molecolare; fanno eccezione, ed è importante sottolinearlo, i Micoplasmi.

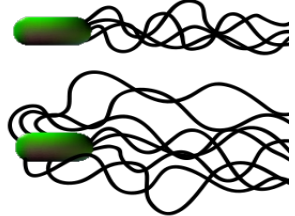
vibrione del colera.

- BATTERIO LOFOTRICO che presenta un polo di flagelli.
- BATTERIO PERITRICO che presenta una lunga serie di flagelli.

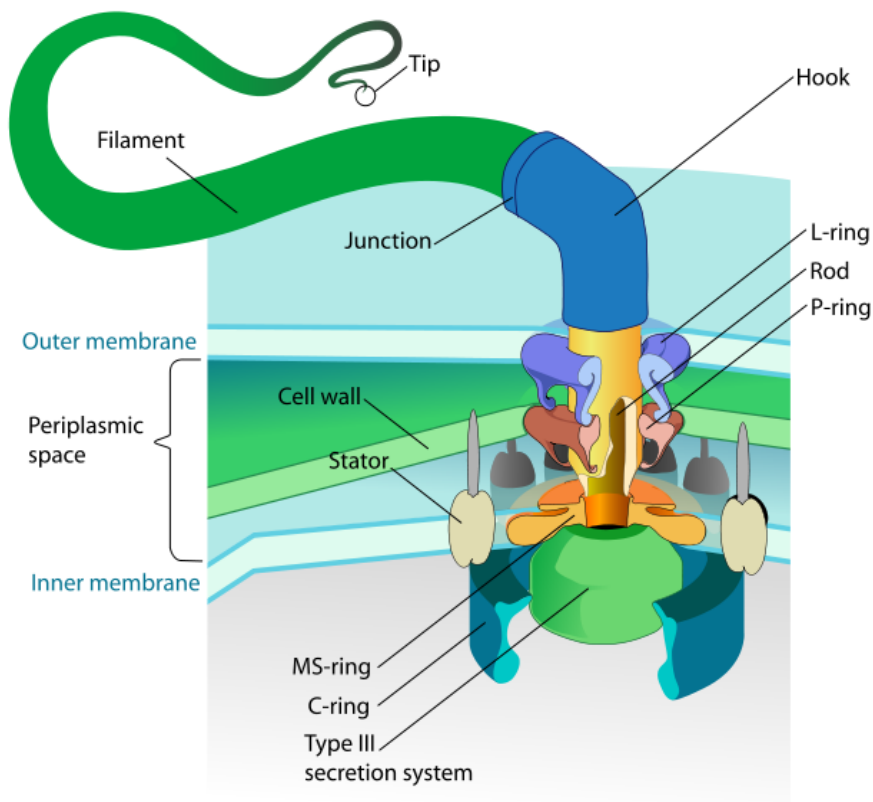


LA STRUTTURA DEL FLAGELLO:

il flagello è fondamentalmente una grande estroflessione che con un movimento rotazionale consente il moto del batterio, tale struttura deve essere STRETTAMENTE CONNESSA CON IL BATTERIO, distinguiamo quindi:



- un CORPO BASALE costituito di COPPIE DI ANELLI che aderiscono strettamente alla membrana, in particolare:
 - i batteri gram negativi presentano due coppie di anelli in quanto il flagello aderisce a due differenti membrane, quella interna e quella esterna.
 - i batteri gram positivi presentano invece unicamente una coppia di anelli.
- una STRUTTURA ESTROFLESSA formata da elementi del citoscheletro.



Nel processo di sintesi di questo tipo di struttura sono coinvolti 20-30 geni distinti; il processo presenta inoltre natura autoassemblante: le componenti vengono cioè tutte sintetizzate e quindi si autoassemblano a formare il flagello funzionante.

Lo stimolo al movimento è legato strettamente a fenomeni di CHEMIOTASSI: si tratta di un movimento generato da un gradiente chimico, tipicamente legato per i batteri a sostanze nutritive ma non solo; il movimento avviene, chiaramente, per

la attivazione dei flagelli¹⁰ e la direzione è determinata da un sistema di tentativi legato a movimenti e misurazioni continue:

- il movimento antiorario dei flagelli genera un MOVIMENTO VETTORIALE.
- il movimento orario dei flagelli genera un MOVIMENTO DISORDINATO.

ALTERNANDO TALI MOVIMENTI IL BATTERIO TARA CONTINUAMENTE IL GRADIENTE determinando in questo modo quale sia la direzione corretta.

La rotazione chiaramente implica una spesa energetica, in particolare sono coinvolti gradienti IONICI o PROTONICI O AL SODIO e non c'è diretto dispendio di ATP. La velocità raggiunge i 20-90micrometri al secondo, il batterio è cioè capace di attraversare una superficie di 2-100 cellule al secondo.

IL FLAGELLO presenta anche un antigene molto potente, di natura proteica, detto ANTIGENE FLAGELLARE che consente al nostro organismo di identificare il batterio come esogeno.

LE SPIROCHETE, al contrario dei batteri forniti di flagello, presentano un sistema di movimento differente che strutturalmente si fonda su:

- la particolare forma a spirale della cellula.
- La presenza di fibre contrattili che si trovano nello SPAZIO PERIPLASMICO.

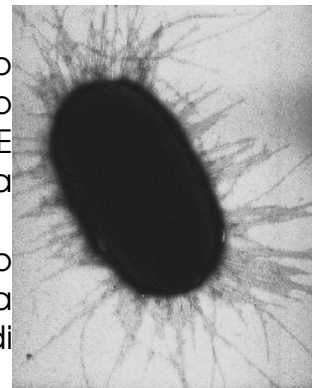
la contrazione delle fibre consente l'accorciamento e l'allungamento del passo dell'elica e quindi il movimento del batterio.

Esiste un terzo metodo attraverso il quale un batterio può muoversi, si tratta del BACTERIAL GLIDING: si tratta di un fenomeno poco noto al momento e sotto il cui nome si sottointendono numerosi diversi meccanismi che consentono il movimento batterico non flagellare¹¹.

LE FIMBRIE O PILI:

si tratta di strutture facoltative caratterizzate da:

- struttura proteica.
- possono essere di due categorie:
 - comuni: sono numerosissime: i microorganismi ne sono praticamente ricoperti; tali strutture rappresentano inoltre le PIÙ IMPORTANTI ADESINE BATTERICHE fondamentali per la adesione della cellula alla mucosa dell'organismo che viene invaso¹².
 - sessuali: si tratta di fimbrie che rendono possibile lo scambio di informazioni genetiche per via orizzontale¹³ tramite CONIUGAZIONE; si tratta di strutture:
 - presenti in numero singolo per cellula.



¹⁰ il foruncolo è tipicamente legato ad un fenomeno di chemiotassi: i granulociti si spostano verso un punto determinato associato ad un follicolo pilifero dove si accumulano e formano il pus.

¹¹ Un tipico esempio è la listeria monocitogenes: questo microorganismo si muove rotonalando nel mezzo in cui si trova.

¹² il gonococco o neisseria gonorree presenta una quantità di fimbrie enorme: perse tali fimbrie il batterio diviene fondamentalmente INCAPACE DI DARE VITA ALLA INFEZIONE.

¹³ i metodi per trasmettere per via orizzontale informazioni sono tre:

- trasformazione.
- trasduzione.
- coniugazione.

- presenti unicamente nelle cellule maschio.
 - Costituite principalmente di proteine.
 - Forma tubulare attraverso cui passa il materiale genetico.
- questo tipo di fimbrie COMPARE UNICAMENTE QUANDO UN BATTERIO CONIUGA CON UN ALTRO e non presenta attività adesiva rispetto alle mucose.

LA CAPSULA:

componente opzionale molto importante, si tratta di una struttura:

- gellosa a livello di consistenza, non protettiva a livello fisico.
- di natura POLISACCARIDICA¹⁴.
- se il batterio produce una capsula, una sua colonia presenta aspetto MUCOSO.
- ha una significativa attività ANTIFAGOCITICA: si oppone alla fagocitosi in modo molto forte annullando molto spesso le difese naturali del nostro organismo.
- anche la capsula, come le fimbrie normali, PRESENTA ATTIVITÀ ADESIVA in virtù della sua natura gellosa.

GLI INCLUSI CITOPLASMATICI:

si tratta di granuli di sostanze che hanno la funzione di MATERIALE DI RISERVA utilizzabile in caso di necessità.¹⁵

Altre componenti opzionali sono sicuramente i PLASMIDI, complessi di DNA circolare.

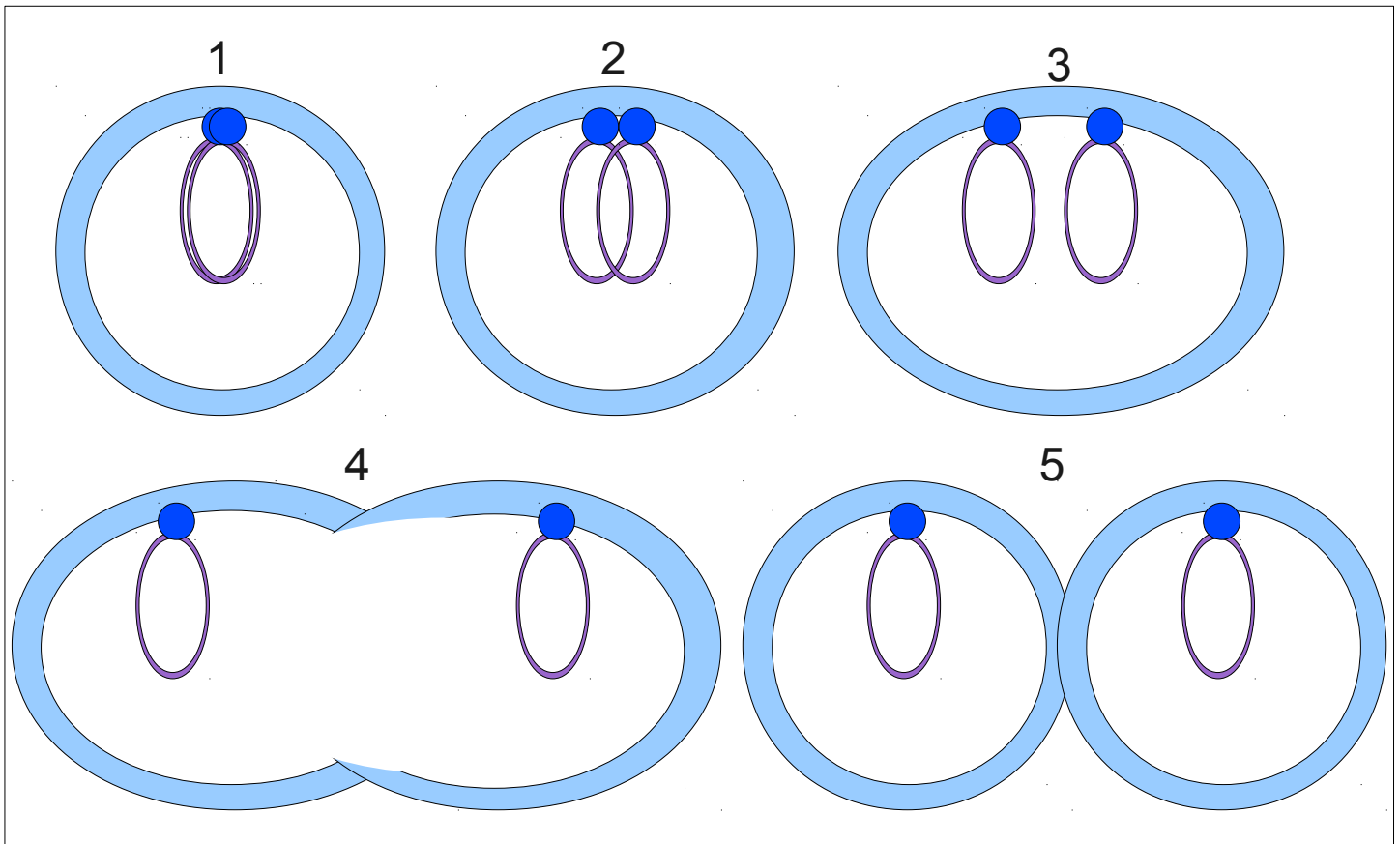
LA PROLIFERAZIONE BATTERICA E LE COLONIE:

La cellula batterica si divide per FISSIONE BINARIA, si divide, cioè, a metà e forma due cellule; si tratta ovviamente di un processo di riproduzione ASESSUALE; in sintesi possiamo dire che:

- SI DUPLICA IL DNA.
- SI SINTETIZZA MEMBRANA TRA I DUE MESOSOMI.
- I DUE MESOSOMI SI ALLONTANANO.
- LA CELLULA SI DIVIDE.

¹⁴ l'antrace presenta una capsula NON POLISACCARIDICA ma composta di ACIDO SIALICO; è una eccezione.

¹⁵ Molto evidenti nei corinebatteri dove appaiono come dei granuli metacromatici.



Per quanto riguarda le modalità riproduttive, tra le diverse categorie morfologiche descritte in precedenza esistono delle differenze relative soprattutto alla capacità di sintetizzare membrana plasmatica:

1. i **COCCHI**, che presentano struttura circolare, possono espandere la propria membrana unicamente sul piano equatoriale¹⁶.
2. i **BASTONCINI** sintetizzano membrana e la espandono anche su superfici non equatoriali: se così non fosse assumerebbero in breve tempo forma circolare.

LA CRESCITA BATTERICA:

i batteri possono crescere anche in vitro, al di fuori del corpo umano, purché si trovino in terreni di coltura adatti alla loro proliferazione, cioè dove siano presenti sostanze che sono **INDISPENSABILI PER LA LORO PROLIFERAZIONE**. Le esigenze dei batteri sono sì variegata ma fondamentalmente molto limitate, essi necessitano di:

- **UNA FONTE DI CARBONIO** che può essere il glucosio.
- **UNA FONTE DI AZOTO** che può derivare da amminoacidi o sali di azoto.
- **IONI INORGANICI** presenti in natura normalmente.
- **ACQUA** ovviamente.
- **FATTORI DI CRESCITA**: sono fattori essenziali al batterio che egli non è

¹⁶ Se noi poniamo i cocci in una sostanza radioattiva, queste risultano marcate ovviamente. Se togliamo tali cellule dal mezzo radioattivo, tutto quanto sintetizzato da questo punto in poi non sarà radioattivo: se esaminiamo la successiva generazione di cellule, possiamo notare come le cellule figlie presentino due emisferi di membrana radioattiva.

capace di sintetizzare.

Esistono poi anche batteri dalle esigenze più diverse soprattutto relativamente alla forma di somministrazione di tali molecole o atomi; è inoltre importante sottolineare il fatto che le cellule eucariotiche necessitano di una QUANTITÀ MOLTO MAGGIORE DI MOLECOLE e QUALITATIVAMENTE PIÙ ELABORATE: le nostre cellule non hanno, infatti, capacità di produrre amminoacidi o vitamine che devono essere ricavate dall'esterno. I batteri sono, quindi, molto più versatili dal punto di vista metabolico.

Distinguiamo fondamentalmente due tipi di terreni di coltura:

- TERRENO LIQUIDO che è composto da:
 - soluzione di peptoni prodotti dalla digestione enzimatica della carne, ma è sufficiente un normale brodo di carne per il suo stesso contenuto proteico e nutriente¹⁷.
 - sali a pH 7,2.
- TERRENO SOLIDO: la scoperta di un tale sistema di coltura fu un passo fondamentale per la microbiologia e in generale della scienza medica¹⁸: su un tale terreno è infatti possibile vedere chiaramente quali e quante siano le colonie presenti in un campione. Si prepara in questo modo:
 - si prepara un terreno liquido.
 - si prepara una quantità equivalente al 2% in volume del campione di AGAR, polisaccaride derivato da un'alga.
 - si scioglie l'AGAR con del calore.
 - si miscela l'AGAR liquido con il terreno liquido.
 - solidificando l'AGAR, riportandolo cioè a temperatura ambiente, SI SOLIDIFICA IL TERRENO DI COLTURA.

Per comprendere i vantaggi di questo tipo di terreno riportiamo un esempio: a livello del cavo orale ci sono moltissime specie batteriche, se mettiamo in coltura un tampone faringeo otteniamo una miscela di batteri che:

- se inseriti in un terreno liquido si moltiplicano, ma tutti allo stesso modo e non risulta possibile determinare direttamente quali siano le specie presenti.
- se utilizzo invece una piastra si formano delle COLONIE BATTERICHE stabili e analizzabili.

LE COLONIE:

IN UN TERRENO SOLIDO LA MOLTIPLICAZIONE BATTERICA DA LUOGO A COMPLESSI DI CELLULE DI UNO STESSO TIPO DETTI COLONIE: tali colonie si formano a partire da un progenitore comune. A livello pratico in un campione POSSO INDIVIDUARE LE SINGOLE SPECIE componenti le diverse colonie in quanto queste differiscono:

- per diametro.
- Per il carattere del bordo.
- per il rilievo che sviluppano sul campione solido.
- per colore.
- per trasparenza.
- per la loro azione sul terreno.

¹⁷ un tempo si utilizzava il brodo di carne, oggi si utilizzano preparati artificiali molto più efficaci e funzionali.

¹⁸ Tale terreno venne inventato da cock osservando le proprietà del polisaccaride AGAR utilizzato in cucina.

tutti fattori visibili ad occhio nudo e propri delle diverse specie batteriche.

IL METABOLISMO BATTERICO:

la crescita microbica in substrati artificiali e naturali sottende ad uno specifico metabolismo, differente da quello delle cellule del nostro corpo:

- molto più rapido del nostro, 10-100 volte di più.
- la cellula batterica presenta anche una efficienza notevole nell'utilizzo di metaboliti e agenti ossidanti diversi dall'ossigeno.
- presenta alcune molecole peculiari, nel nostro organismo completamente assenti, come precursori di:
 - mureina.
 - LPS.
 - acidi teicoici.
- la cellula batterica è capace di eseguire una serie di reazioni notevolissima, fino a 2000.

IL METABOLISMO BATTERICO comprende fondamentalmente quattro tipologie di reazioni:

- reazioni CATABOLICHE; si tratta di quelle reazioni che si svolgono in tre fasi:
 - CATTURA DI SOSTANZE DALL'ESTERNO tramite diversi processi di endocitosi e non solo.
 - PRODUZIONE DI ENERGIA, cioè ATP.
 - PRODUZIONE DI METABOLITI DI BASE UTILI A COSTITUIRE COMPOSTI PIÙ COMPLESSI, i metaboliti di base sono circa 12 per quanto riguarda i batteri:
 - glucosio 6-P.
 - Fruttosio 6-P.
 - Pentosi 5-P.
 - Eritrosio 5-P.
 - Triosio-P.
 - Gliceraldeide 3-P.
 - Fosfoenolpiruvato.
 - Piruvato.
 - AcetilCoA.
 - Alfa-chetoglutarato.
 - SuccinilCoA.
 - Ossalacetato.

Tutto questo a condizioni di pH accettabili per la cellula.

sommando ai 12 metaboliti composti minerali e ioni, si possono ESEGUIRE FONDAMENTALMENTE TUTTE LE REAZIONI BATTERICHE.

i batteri sono capaci di catabolizzare sostanze attraverso due vie fondamentalmente, in particolare:

- RESPIRATORIA: è la via nella quale si utilizza un agente ossidativo non biologico; possiamo dire che:
 - generalmente l'ultimo accettore della catena respiratoria è l'OSSIGENO.
 - esistono tipologie di respirazione basate su azoto o zolfo e che

vengono dette RESPIRAZIONI ANAEROBIE.

LA RESPIRAZIONE PRODUCE PRODOTTI DI SCARTO ESTREMAMENTE TOSSICI come:

- perossido di idrogeno.
- anione superossido.

i batteri che utilizzano questo metodo di catabolizzazione devono possedere anche ENZIMI DETOSSIFICANTI, in particolare:

- LA SUPEROSSIDO DISMUTASI che produce a partire dall'anione superossido acqua ossigenata.
- LA PEROSSIDASI che produce acqua e ossigeno a partire da acqua ossigenata detossificando definitivamente la cellula.
- FERMENTATIVA: in questo caso IL PROCESSO DI PRODUZIONE DI ENERGIA CONSISTE NEL TRASFERIMENTO DI ELETTRONI E PROTONI AD UN ACCETTORE ORGANICO e non ad un accettore inorganico come l'azoto o l'ossigeno. Le attività fermentative sono tantissime e molto diverse tra loro; un tipico esempio di attività fermentativa è la GLICOLISI. Caratteristico di questo tipo di metabolismo è il fatto che produce, al termine della catena, una serie di cataboliti notevoli e identificabili: molto spesso un batterio predilige una certa via fermentativa alle altre e questo ci consente di IDENTIFICARLO sulla base per esempio dei cataboliti che produce.

Il catabolismo di un batterio ci consente di identificare:

- BATTERI AEROBI STRETTI che non sopravvivono senza ossigeno.
- BATTERI ANAEROBI STRETTI che non sopravvivono in presenza di ossigeno, un esempio tipico è il clostridium tetani¹⁹.
- BATTERI FACOLTATIVI che fanno sia FERMENTARE che OSSIDARE.

In alternativa si possono classificare i batteri come FERMENTANTI e NON FERMENTANTI; come noto la respirazione produce una quantità di energia decisamente superiore.

- reazioni DI BIOSINTESI che necessitano dei prodotti del catabolismo:
 - energia.
 - molecole anaboliche.
- reazioni DI POLIMERIZZAZIONE che necessitano di energia e molecole anaboliche.
- reazioni DI ASSEMBLAGGIO che necessitano di energia e molecole anaboliche.

COME UTILIZZARE I TERRENI DI COLTURA PER DETERMINARE LA PRESENZA DI UNO SPECIFICO BATTERIO:

tutte le analisi su terreni di crescita vengono eseguite per determinare quale sia la natura del MICROBO; per farlo possiamo alterare le condizioni del terreno per renderlo più o meno adatto; distinguiamo:

- terreni base.
- terreni ricchi.
- terreni selettivi.

¹⁹ per avere una infezione da tetano la ferita deve essere tale da garantire una situazione di anaerobiosi, cioè una ferita LACERO CONTUSA.

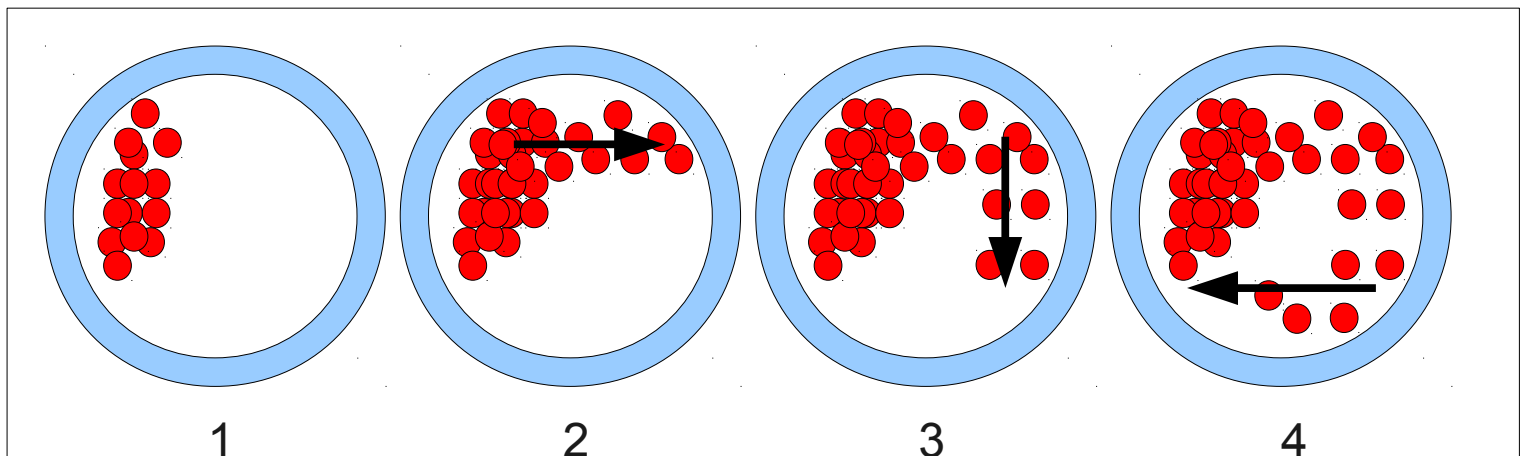
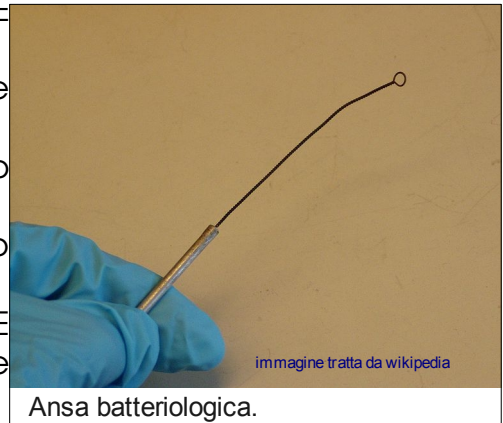
- terreni differenziati.
- terreni di arricchimento.

Tutti questi metodi prevedono in ogni caso LA SEMINA SU UN TERRENO SOLIDO del batterio:

- contaminano un terreno a partire da una estremità direttamente con un TAMPONE prelevato.
- utilizzo un'ansa BATTERIOLOGICA: si tratta di un piccolo bastone con un occhiello ad un apice e STRISCIO LE COLONIE:

- striscio in senso perpendicolare le prime colonie.
- striscio in senso perpendicolare il primo striscio.
- striscio in senso perpendicolare il secondo striscio.

DI MODO DA DILUIRE LA CONCENTRAZIONE BATTERICA così da isolare le cellule batteriche nel modo migliore possibile.



PER ACCELERARE DATI PROCESSI POSSONO COLTIVARE IL BATTERIO CON:

- UN TERRENO SELETTIVO: si tratta di un terreno che contiene un metabolita particolarmente utile per un batterio; per esempio posso accelerare la crescita di colonie di salmonella tramite un terreno selettivo ricco in sali biliari che di fatto inibisce la crescita delle altre specie batteriche. Il fattore di selezione può essere anche un antibiotico, ma molto spesso si utilizzano coloranti.
- UN TERRENO DIFFERENZIALE: si tratta di un terreno contenente un metabolita marcato o distinguibile il cui utilizzo da parte del batterio ne consente la identificazione; per esempio salmonella e coli crescono nelle medesime condizioni, aggiungendo allora un composto che viene utilizzato specificamente da una delle due specie batteriche, mi è possibile determinare a quale categoria appartenga una colonia.
- UN TERRENO DI ARRICCHIMENTO: SI TRATTA DI TERRENI CHE per determinate

condizioni specifiche POSSONO ARRICCHIRSI DI UN DATO TIPO DI BATTERIO; per esempio il vibrione del colera tollera un pH molto alto, se espongo il campione a pH 9 si sviluppa solo il vibrione e gli altri batteri non si moltiplicano.

L'ESPANSIONE DELLE COLONIE:

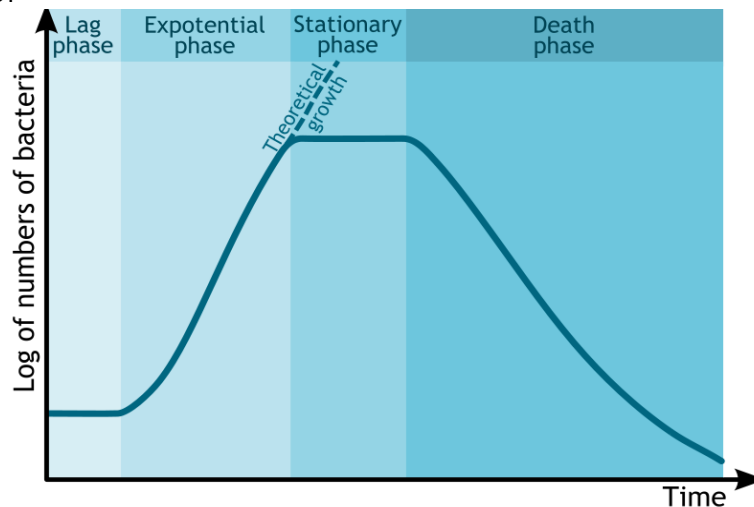
i batteri hanno una capacità di replicazione elevatissima; l'escherichia coli per esempio ha una velocità di replicazione di circa 20 minuti, per un modello del genere a partire da una cellula, in 9 ore si arriva a circa 6 miliardi di cellule²⁰. Una tale velocità riproduttiva dona al mondo batterico UNA PLASTICITÀ INFINITA: in una notte possono svilupparsi dei batteri che acquisiscono UNA MUTAZIONE CHE CONSENTE, per esempio, DI CATABOLIZZARE UN CERTO METABOLITO O DI ELIMINARE UN CERTO ANTIBIOTICO, inoltre questi batteri sono capaci di COMUNICARSI MUTAZIONI GENETICHE ACQUISITE tramite meccanismi di trasmissione orizzontale del genoma.

Per quanto riguarda la evoluzione di una colonia batterica in un campione ottimale, possiamo dire che:

- **FASE LAG:**
in un primo momento abbiamo una fase stazionaria che prelude alla formazione della colonia; la presenza o assenza di questa fase e la sua durata sono legate in modo molto stretto a:
 - presenza o assenza di composti fondamentali nella cellula che devono essere sintetizzati.
 - La presenza di enzimi adatti ai metaboliti presenti nel mezzo: nel caso in cui questi non siano presenti, sarà necessario produrli.
 - Eventuali danni alla struttura della cellula.
- **FASE LOG:**
si passa ad una fase LOGARITMICA dove tutte le cellule si riproducono attivamente. Possiamo distinguere:
 - crescita BILANCIATA nel momento in cui le condizioni permangono costanti.
 - crescita SBILANCIATA nel momento in cui le condizioni mutino in avverse. Generalmente la durata della fase incrementa con il numero di nutrienti posti nel mezzo.
- si passa ad una fase STAZIONARIA durante la quale tante cellule muoiono quante si moltiplicano. Questa fase si raggiunge generalmente per concentrazioni batteriche nell'ordine di 10^9 /ml. Giunti verso il termine di questa fase si assiste a modificazioni fisiologiche delle specie batteriche che divengono generalmente più resistenti.
Le cause di questa fase possono essere:
 - calo dei nutrienti.
 - Accumulo di cataboliti tossici.
 - Mancata esposizione all'ossigeno: spesso in una popolazione posta in un piattino unicamente le cellule più superficiali sono in diretto contatto con l'ossigeno atmosferico.

²⁰ Il batterio con la velocità di crescita più elevata in assoluto è il clostridium perfringens che si replica ogni 7 minuti.

- si arriva infine ad una fase durante la quale il numero delle cellule diminuisce.



LA MISURAZIONE DELLA PROLIFERAZIONE BATTERICA:

abbiamo a disposizione diversi metodi per determinare il livello di crescita batterica, si distinguono:

- **METODI FISICI:** poco utilizzati ma molto numerosi, in particolare:
 - i metodi meno utilizzati in assoluto sono:
 - peso secco.
 - volume.
 - contatori elettronici.
 - metodi che invece trovano una applicazione clinica sono:
 - metodi turbidimetrici: si tratta di un metodo sostanzialmente basato sulla SPETTROFOTOMETRIA: raggiunta una certa quantità di batteri, si ha un deciso intorbidimento del mezzo di coltura, soprattutto liquido; con uno SPETTROFOTOMETRO possiamo valutare il livello di torbidità e associarlo ad una data concentrazione di batteri nel liquido. Le curve di taratura sono costituite da diverse misurazioni eseguite nel tempo²¹.
 - tubi di opacità.
 - conteggio diretto.
- **METODI CHIMICI:**
 - concentrazione proteica nel mezzo.
 - concentrazione di DNA nel mezzo.
 - incorporazione di componenti in particolare rispetto a componenti radioattive che risultano poi visualizzabili tramite radiografie.
- **METODI BIOLOGICI:**
 - determinazione delle UFC/ml: UFC sta per unità formanti colonie; alla semina di date cellule sulla piastra del terreno solido, si formano delle colonie²², è possibile valutare sulla base delle colonie formate la quantità iniziale di batteri presenti nel campione. Tale procedura di analisi si

²¹ per ogni specie microbica sarebbe necessario costruire una scala specifica. Per non sprecaire tempo si utilizzano concentrazioni paragonabili con approssimazioni anche consistenti.

²² si possono valutare le quantità batteriche in un campione di urine con questo metodo, se il numero è più di 10^5 /ml abbiamo una infezione urinaria.

esegue fondamentalmente in questo modo:

- In un campione solido posso seminare circa 0,1 ml di un liquido, per esempio urina.
 - nel caso sia necessario analizzare urine patologiche per esempio, in 0,1ml di liquido possono essere presenti anche 10000 batteri: l'evoluzione di 10000 colonie porterebbe alla formazione di una patina che renderebbe non valutabile il campione.
 - per ovviare a tale problema diluisco il campione in questo modo:
 - preparo una serie di provette di fisiologica da 9ml e in una di queste inserisco 1ml di urina ottenendo una urina diluita a 1/10.
 - prendo 1ml di urina diluita e la inserisco in un'altra provetta contenente un quantitativo analogo di fisiologica e ottengo una urina diluita a 1/100.
 - procedo in questo modo fino ad ottenere la concentrazione voluta, per esempio un'urina diluita di 10.000 volte (cioè 10^{-4}).
 - a questo punto METTO IN TERRENI DI COLTURA un estratto di 0,1ml dai CAMPIONI DI URINA DIFFERENTEMENTE DILUITI; posso, verosimilmente, ottenere un risultato di questo tipo:
 - per una diluizione di 10000 volte ($1 \cdot 10^{-4}$) si svilupperanno 7 colonie.
 - per una diluizione di 1000 volte ($1 \cdot 10^{-3}$) si svilupperanno circa 67 colonie.
 - e così via.
 - a questo punto si preleva il campione che presenta la concentrazione di CFU più valutabile, il secondo con 67 colonie per esempio, E SI ESEGUE UN CALCOLO di questo tipo:
 - $67 \cdot 10^3$ e ottengo la concentrazione del campione analizzato di 0,1ml.
 - $67000 \cdot 10$ e ottengo il valore in un millilitro.il risultato è circa $6,7 \cdot 10^5$ UFC.
- most probable number: si valuta quale sia il probabile numero di componenti presenti in un campione sulla base di una delle qualità dello stesso.

GENETICA BATTERICA:

I batteri hanno la capacità di trasmettere informazioni GENETICHE in due metodi:

- VERTICALE per fissione binaria, cioè la normale replicazione cellulare.
- ORIZZONTALE attraverso varie modalità che in ordine di efficienza sono:
 - TRASFORMAZIONE.
 - TRASDUZIONE.
 - CONIUGAZIONE.

questi metodi di trasmissione sono molto utilizzati in laboratorio nello studio dei batteri e in vitro la trasformazione è piuttosto frequente; al contrario in VIVO la CONIUGAZIONE è il metodo più rapido ed efficiente per la trasmissione orizzontale del genoma, trasduzione e trasformazione sono meno efficienti.

In linea generale per il materiale genetico, sia esso trasmesso al batterio per

trasformazione, trasduzione o coniugazione, possiamo individuare quattro destini:

1. integrazione nel genoma del batterio ricevente.
2. Permanenza in forma separata dal genoma; il materiale genetico non si replica e permane unicamente in una cellula.
3. Permanenza in forma separata dal genoma e replicazione, quindi trasmissione, del materiale genetico.
4. Distruzione del materiale genetico.

I PLASMIDI:

si tratta di sequenze geniche circolari che possono esistere in forma indipendente dal cromosoma batterico vero e proprio; strutturalmente possono contenere fino a 30 geni. Di questa categoria fa parte anche un plasmide fondamentale quale il fattore di replicazione. I plasmidi possono essere, quindi, trasmessi, in particolare possiamo distinguere:

- EPISOMI: si tratta di plasmidi che possono essere integrati nel cromosoma batterico o meno e che, una volta integrati, possono anche uscirne.
- PLASMIDI DI CONIUGAZIONE: sono plasmidi che, come il fattore F, contengono le informazioni necessarie alla creazione della fimbria sessuale utile per la coniugazione batterica.
- PLASMIDI R che codificano per resistenze ad antibiotici, generalmente possono contenere da una a otto resistenze. Questi fattori spesso sono anche FATTORI DI CONIUGAZIONE e TRASPOSONI e si propagano molto velocemente nella popolazione.
- PLASMIDI COL: si tratta di plasmidi che codificano per batteriocine, sostanze cioè prodotte da batteri contro altri batteri; si tratta di sostanze che attaccano la membrana del batterio o la parete della cellula o il DNA. Chiaramente il batterio che produce questo tipo di fattori ne è immune.
- PLASMIDI DI VIRULENZA che codificano per tossine che incrementano la virulenza del batterio.
- PLASMIDI METABOLICI che contengono una serie di informazioni utili per il metabolismo batterico.

LA TRASFORMAZIONE:

Acquisizione diretta da parte di una cellula COMPETENTE²³ (ricevente) di un FRAMMENTO GENETICO proveniente da un'altra cellula (DONATRICE) che è andata incontro a lisi²⁴.

Per poter eseguire una operazione di questo tipo quindi sono richieste competenze e condizioni particolari.

ESPERIMENTO DI GRIFFITH (1928):

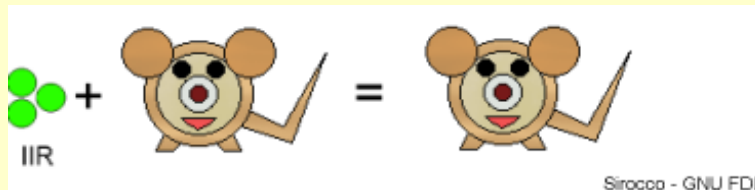
all'epoca degli esperimenti di Griffith non era nota la esistenza del DNA: il ricercatore fu comunque in grado di capire che qualcosa veniva trasferito tra le cellule batteriche, anche se non sapeva cosa fosse. È anche importante sottolineare che lo studioso non intendeva occuparsi di questo tipo di fenomeni, stava studiando la patogenesi associata allo pneumococco, in particolare relativamente ALLA CAPSULA BATTERICA e alla sua funzione. Oggi sappiamo che esistono circa 80 diversi tipi di capsule tutte funzionalmente simili ma strutturalmente differenti. Griffith eseguì il suo esperimento in questo modo,

²³ competente in questo caso indica semplicemente che la cellula è capace di ricevere.

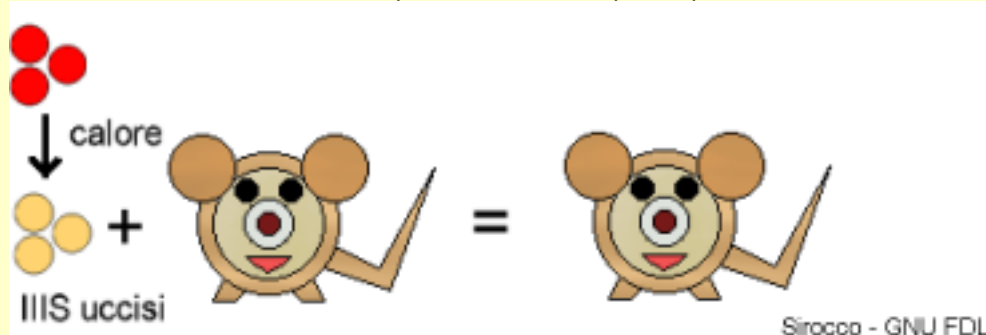
²⁴ la cellula donatrice non solo deve morire ma deve anche andare incontro a lisi per liberare il DNA.

attraverso tre fasi:

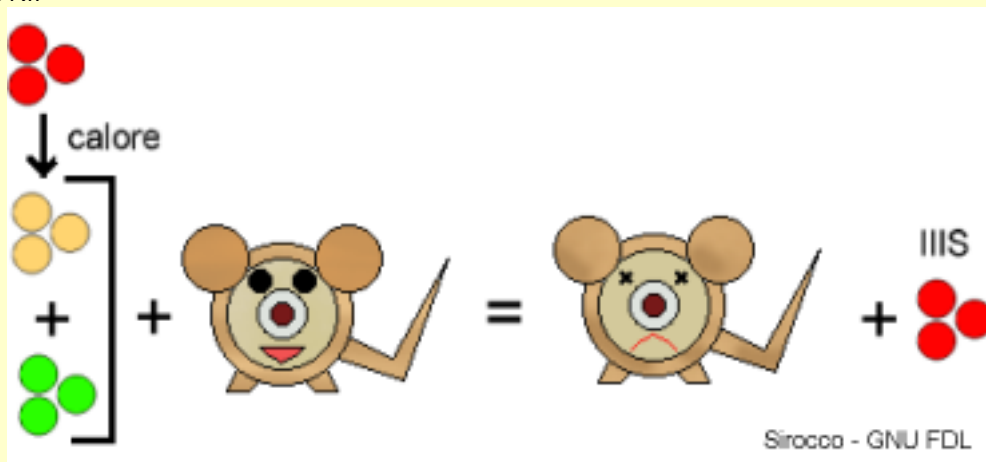
- prese uno pneumococco non capsulato e lo inoculò in un topo vivo e il topo sopravvisse alla infezione.



- prese un secondo pneumococco, in questo caso capsulato, con una specifica capsula e lo uccise; anche in questo caso il topo sopravvisse alla inoculazione.



- in una terza fase dell'esperimento Griffith inoculò una miscela di questi due pneumococchi, il primo vivo acapsulato e il secondo morto e capsulato, e il topo MORÌ.



Da analisi più approfondite il ricercatore capì che ad uccidere il topo era stato uno PNEUMOCOCCO CAPSULATO CON CAPSULA IDENTICA A QUELLA DEI BATTERI UCCISI E INOCULATI; a questo punto Griffith elaborò una teoria che prevedeva in qualche modo la presenza di un scambio di materiale tra pneumococchi vivi e morti; oggi noi sappiamo che il fenomeno si verifica in questo modo:

- la lisi dello pneumococco capsulato libera il DNA.
- il DNA viene catturato e ACQUISITO dalla cellula batterica viva acapsulata.
- lo pneumococco acapsulato ACQUISISCE LA CAPACITÀ DI ESPRIMERE LA CAPSULA.

lo pneumococco precedentemente acapsulato diviene quindi capsulato e letale.

Griffith fu molto fortunato oltre che molto arguto: lo pneumococco tende infatti per sua

natura a lisare una volta morto e rende molto più probabile il trasferimento di DNA.

La cellula che riceve DEVE ESSERE COMPETENTE, tale competenza si estrinseca nella capacità di:

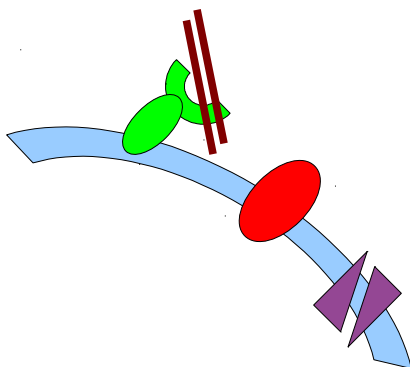
- esprimere DNA binding protein sulla membrana cellulare.
- esprimere proteine che PERMEABILIZZANO LA PARETE, prevalentemente danneggiandola, dette cell wall autolysins.
- delle NUCLEASI capaci di trasformare il DNA acquisito in forma integrabile nel genoma della cellula.

se la cellula batterica manca di uno di questi fattori, diviene INCAPACE DI ACCETTARE IL DNA.

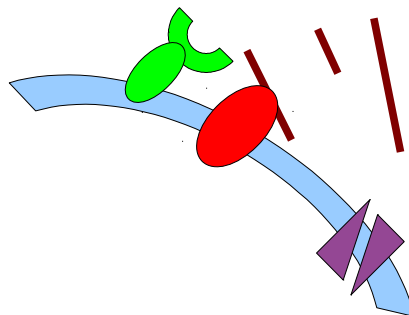
Il DNA entra nella cellula in forma di SINGLE STAND e con una CERTA DIMENSIONE, questo è garantito dalla azione della NUCLEASI sopra citata. Il DNA acquisito può essere quindi:

- eliminato.
- ricombinato e integrato nel genoma della cellula.

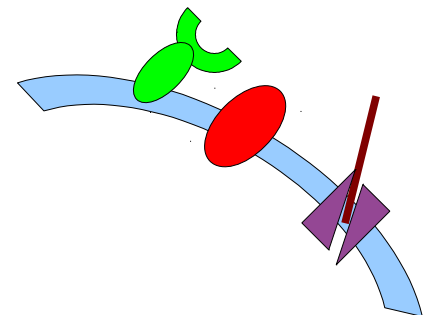
Terapie che vadano ad impedire fenomeni di questo tipo non esistono al momento, l'unico modo per impedire che si trasmettano FARMACORESISTENZE tramite questo tipo di metodo è UTILIZZARE IL MENO POSSIBILE ANTIBIOTICI: la informazione genetica viene infatti trattenuta unicamente se UTILE.



La DNA binding protein lega il DNA della cellula lisata.



La nucleotidasi elimina una delle due catene e rende il DNA compatibile con la cellula batterica.



Le cell wall autolysins consentono il passaggio del filamento attraverso la parete cellulare e la membrana.

Non tutti i batteri sono capaci di dare questo tipo di fenomeni, in particolare in natura si sono osservati questi fenomeni in batteri:

- streptococcus.
- Bacillus.
- Thermoactinomyces.
- Haemophilus.
- Neisseria.
- Moraxella.
- Acinetobacter.

- Azotobacter.
- Pseudomonas.

Ciascun batterio poi può presentare fenomeni di trasformazione in modo molto specifico o in modo più generalizzato.

In laboratorio si possono indurre questi fenomeni semplicemente incrementando la permeabilità della membrana e lavorando a concentrazioni di DNA molto elevate.

In una popolazione competente generalmente 1 batterio su 1000 ha la capacità di integrare il genoma. Per quanto riguarda la competenza infine, ricordiamo che questa può essere acquisita in particolari situazioni, per esempio nel momento in cui la coltura batterica sia particolarmente fertile.

LA TRANSDUZIONE:

Processo di trasferimento genico nel quale il frammento di DNA è veicolato nella cellula ricevente da un FAGO TEMPERATO.

Tale sistema di trasmissione prevede e richiede l'intervento di FAGI o BATTERIOFAGI, si tratta di VIRUS DELLA CELLULA BATTERICA; tali virus sono esclusivi delle cellule procariotiche batteriche e hanno comportamenti simili per certi aspetti, e diversi per certi altri, dai virus delle cellule eucariotiche.

LA STRUTTURA DEL BATTERIOFAGO:

un virus batteriofago è costituito di un CAPSIDE (non una capsula) contenente una informazione genetica, il virus batterico è tuttavia piuttosto complesso e, ricordiamo:

- Il batteriofago attacca unicamente cellule batteriche.
- il BATTERIOFAGO RICONOSCE UN SINGOLO BATTERIO.

Il metodo di invasione non è molto diverso: l'obiettivo del batteriofago è analogo a quello del virus umano, far esprimere ad una cellula il suo genoma; l'azione si svolge, tuttavia, in modo lievemente diverso.

- IL VIRUS UMANO ENTRA NELLA CELLULA mentre il VIRUS BATTERICO NON PENETRA ATTRAVERSO LA MEMBRANA; in ogni caso:
 - riconosce la cellula come compatibile.
 - si lega alla membrana cellulare.
 - inocula nel batterio l'acido nucleico.

IL DNA naturalmente ha il compito di RENDERE POSSIBILE LA MOLTIPLICAZIONE VIRALE A SPESE DELLA CELLULA, quindi tale materiale:

- si REPLICA.
- si FA TRADURRE.

rendendo possibile l'incremento del numero delle componenti.

Il virus, replicate le sue componenti, le assembla e innesca un ciclo litico che porta alla LISI DELLA CELLULA e alla LIBERAZIONE DELLE COPIE DEL VIRUS.

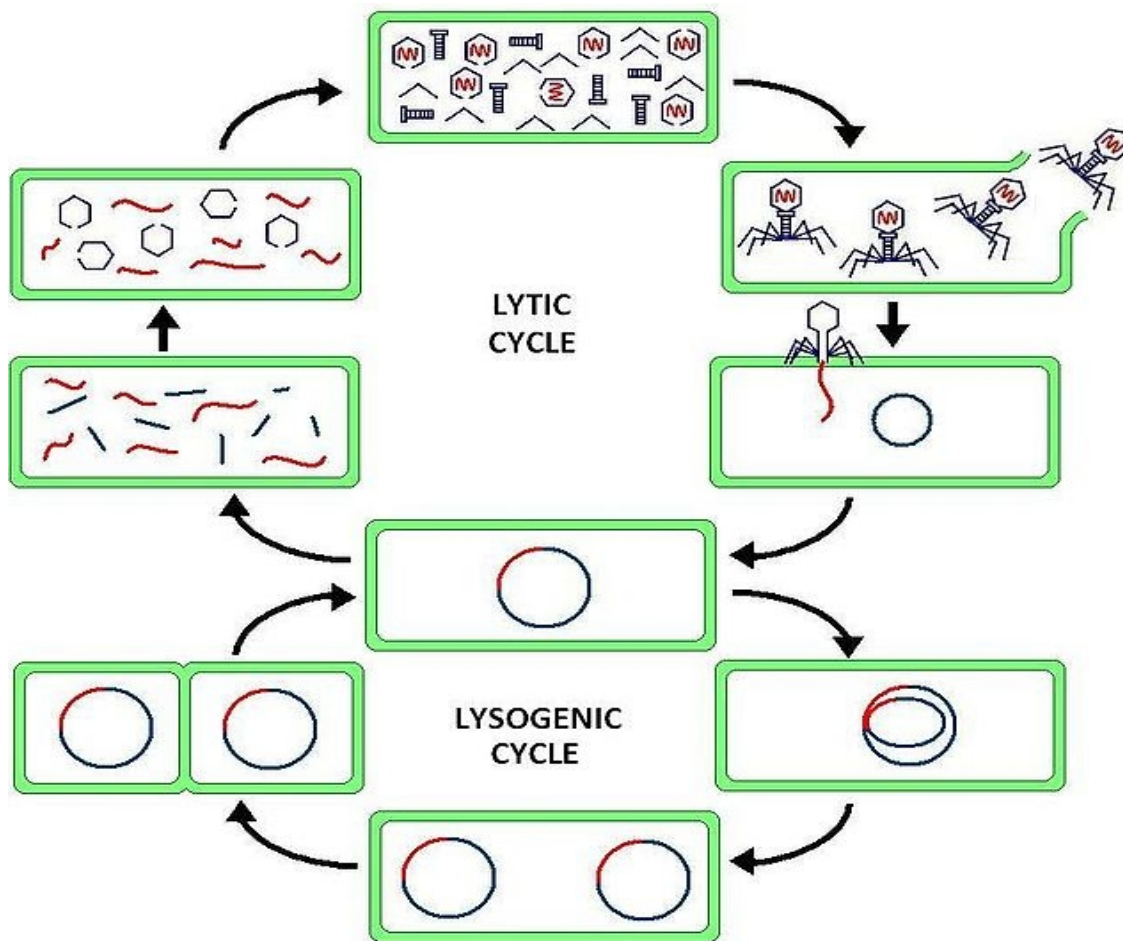
- I FAGI si dividono in due categorie, FAGI NORMALI e FAGI TEMPERATI; rispetto ai fagi normali sopra descritti, i fagi temperati sono FAGI CHE HANNO LA CAPACITÀ DI DARE DUE FENOMENI ALTERNATIVAMENTE:
 - INFEZIONE PRODUTTIVA come quella vista in precedenza.
 - UNA LISOGENIZZAZIONE: si tratta di un processo di acquisizione e integrazione del genoma FAGICO NEL CROMOSOMA BATTERICO.

LA LI SO GEN IZZAZ IONE:

inserimento nel cromosoma batterico del genoma fagico in forma inespressa (PROFAGO). Gran parte dei geni virali è repressa: non c'è sintesi di proteine strutturali. Nel momento in cui tali geni vengono espressi, si parla di CONVERSIONE FAGICA.

COMPLESSIVAMENTE:

- il profago inocula il suo genoma nella cellula.
- tale DNA viene integrato nella cellula batterica ma il gene permane INESPRESSO per la gran parte: questo è dovuto alla presenza di un gene R che reprime la trascrizione di quella parte della sequenza del cromosoma batterico.
- una parte del fago, nonostante la presenza di R, può anche essere espressa, e in tal caso la CELLULA CAMBIA IL SUO FENOTIPO: molti batteri producono tossine che sono codificate da DNA FAGICO integrato; in questo caso si parla di CONVERSIONE FAGICA. Batteri che vanno incontro a questo tipo di fenomeni sono per esempio:
 - corynebacterium diphtheriae, responsabile delle difterite.
 - Vibrio Cholere, che causa il colera.
 - Shigella Dysenteriae la cui infezione porta a dissenteria.
 - Streptococcus pyogenes causa della scarlattina, tonsillite streptococcica.
- POSSONO A QUESTO PUNTO VERIFICARSI FENOMENI DI QUESTO TIPO:
 - la integrazione del genoma fagico nella cellula è molto precisa, non avviene mai a caso, per questo motivo, al momento della TRASCRIZIONE DEL MATERIALE GENETICO DEL FAGO che deve essere inserito nel CAPSIDE una volta sintetizzate tutte le componenti virali, possono essere AGGIUNTE COMPONENTI GENETICHE BATTERICHE CHE SI COLLOCANO IN PROSSIMITÀ DELLA SEQUENZA FAGICA.
 - IL FAGO PERMANE INFETTANTE FIN TANTO CHE È PRESENTE IL CAPSIDE: il DNA dei nuovi fagi perderà probabilmente la capacità di generare nuovi fagi virulenti, ma trasmetterà alle cellule batteriche infettate IL MATERIALE GENETICO ERRONEAMENTE INTEGRATO NEL CAPSIDE.



IL FAGO LAMBDA: il fago lambda inocula una sequenza genica che va ad inserirsi TRA DUE GENI SPECIFICI presenti nel cromosoma del coli:

- il gene GAL.
- il gene BIO.

la sequenza posta tra i due geni viene riconosciuta dal genoma fagico che stimola:

- l'apertura della sequenza.
- la inserzione del materiale.

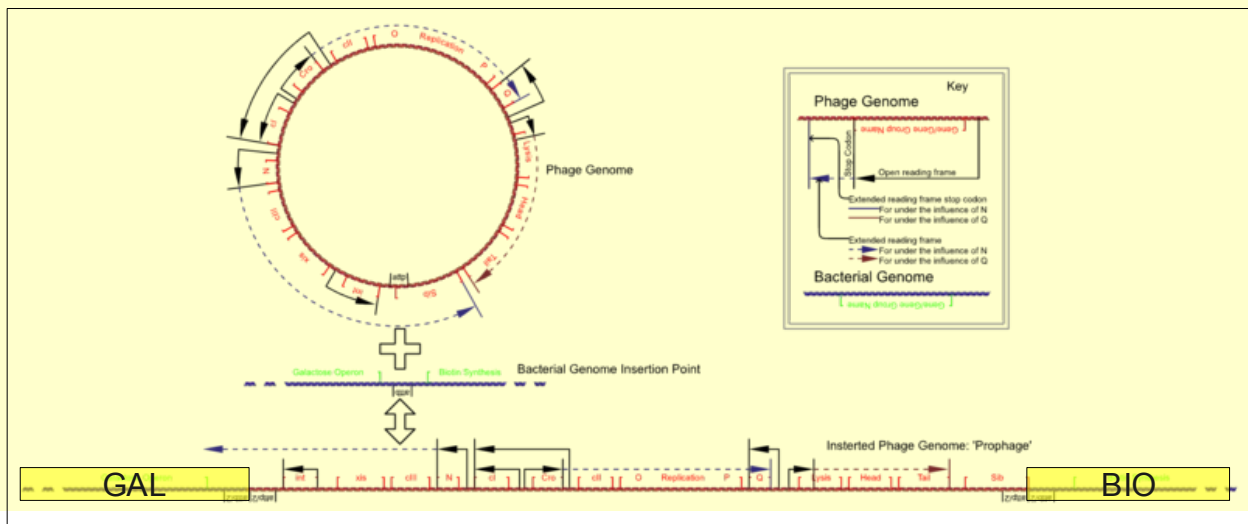


immagine tratta e modificata da wikipedia

In questo caso quindi è molto più probabile che vengano ad essere trasferiti geni come GAL e BIO. In laboratorio tali tecniche sono molto utilizzate in quanto consentono di trasferire specifici geni da un batterio ad un altro.

In linea generale distinguiamo:

- **TRANSDUZIONE SPECIALIZZATA**: si tratta di un fenomeno come quello che abbiamo visto ora.
- **TRANSDUZIONE GENERALIZZATA**: tale evento si verifica come un errore di inserzione del materiale genetico in un capsido unicamente durante un CICLO LITICO; in questo caso infatti:
 - il batteriofago innesca il ciclo litico.
 - il genoma del batterio viene fatto a pezzi.
 - una parte del GENOMA BATTERICO può ANDARE A SOSTITUIRE IL GENOMA FAGICO IN UN CAPSIDE generando:
 - un fago non infettivo.
 - un fago completamente privo del suo DNA.

Complessivamente possiamo dire che tale fenomeno può interessare quantità di genoma intorno al 1-3% in dipendenza dalle dimensioni del capsido virale, nel 90-70% dei casi il genoma, trasmesso in forma di doppio strand, non viene integrato.

LA CONIUGAZIONE:

Trasferimento A SENSO UNICO di una parte del genoma di una cellula DONATRICE ad una cellula RICEVENTE attraverso un contatto fisico.

La capacità di trasferimento dipende dalla presenza nella cellula di UN FATTORE DI FERTILITÀ detto FATTORE F, in presenza di tale fattore si parla di PLASMIDE CONIUGATIVO capace di stimolare il trasferimento.

JOSHUA LEDERBERG:

Questo ricercatore sperimentò la capacità dei batteri di comunicarsi informazioni utili o essenziali senza innescare cicli di morte cellulare, in particolare prese:

- dei batteri capaci di fabbricare DUE COMPONENTI ESSENZIALI e INCAPACI DI SINTETIZZARNE DUE: per tali batteri la presenza nel terreno di coltura dei secondi due elementi sarà essenziale.
- dei batteri capaci di fabbricare LE DUE COMPONENTI ESSENZIALI che gli altri batteri sono INCAPACI DI SINTETIZZARNE e viceversa: per tali batteri la presenza nel terreno di coltura dei primi due elementi è essenziale.

Il ricercatore decise di mettere in un terreno di coltura PRIVO DI TUTTE LE COMPONENTI SOPRA DESCRITTE i due gruppi di batteri: ALCUNI BATTERI PROLIFERAVANO. Ad una più attenta analisi il ricercatore scoprì che I BATTERI CHE PROLIFERAVANO presentavano un particolare plasmide che venne chiamato PLASMIDE o FATTORE F.

Oggi sappiamo che tale fattore:

- è una sequenza circolare di DNA, DETTO PLASMIDE F composta di:
 - geni TRA deputati al trasferimento.
 - geni REP deputati alla replicazione.
 - Una sequenza ORI-T essenziale alla apertura del plasmide e quindi alla sua replicazione.
 - sequenze DI INSERZIONE deputate a garantire l'inserimento del plasmide nel genoma della cellula ricevente.
- Una gran parte del PLASMIDE in questione può essere associato a QUALSIASI

FUNZIONE, soprattutto in vitro, e consente di passare informazioni anche vitali alla cellula ricevente.

- IL FATTORE F può collocarsi:
 - LIBERO NEL CITOPLASMA e si definisce AUTOREPLICANTE; in questo caso la cellula viene detta di tipo F+.
 - Il FATTORE F può inoltre essere integrato nel cromosoma batterico e si parla in questo caso di BATTERI HFR ad alta frequenza di ricombinazione.
- A livello di dimensioni presenta una lunghezza di circa 100kB e i geni coinvolti nei meccanismi di trasferimento, contenuti nell'operone TRA sono circa 28.

CELLULE F+ ed F-:

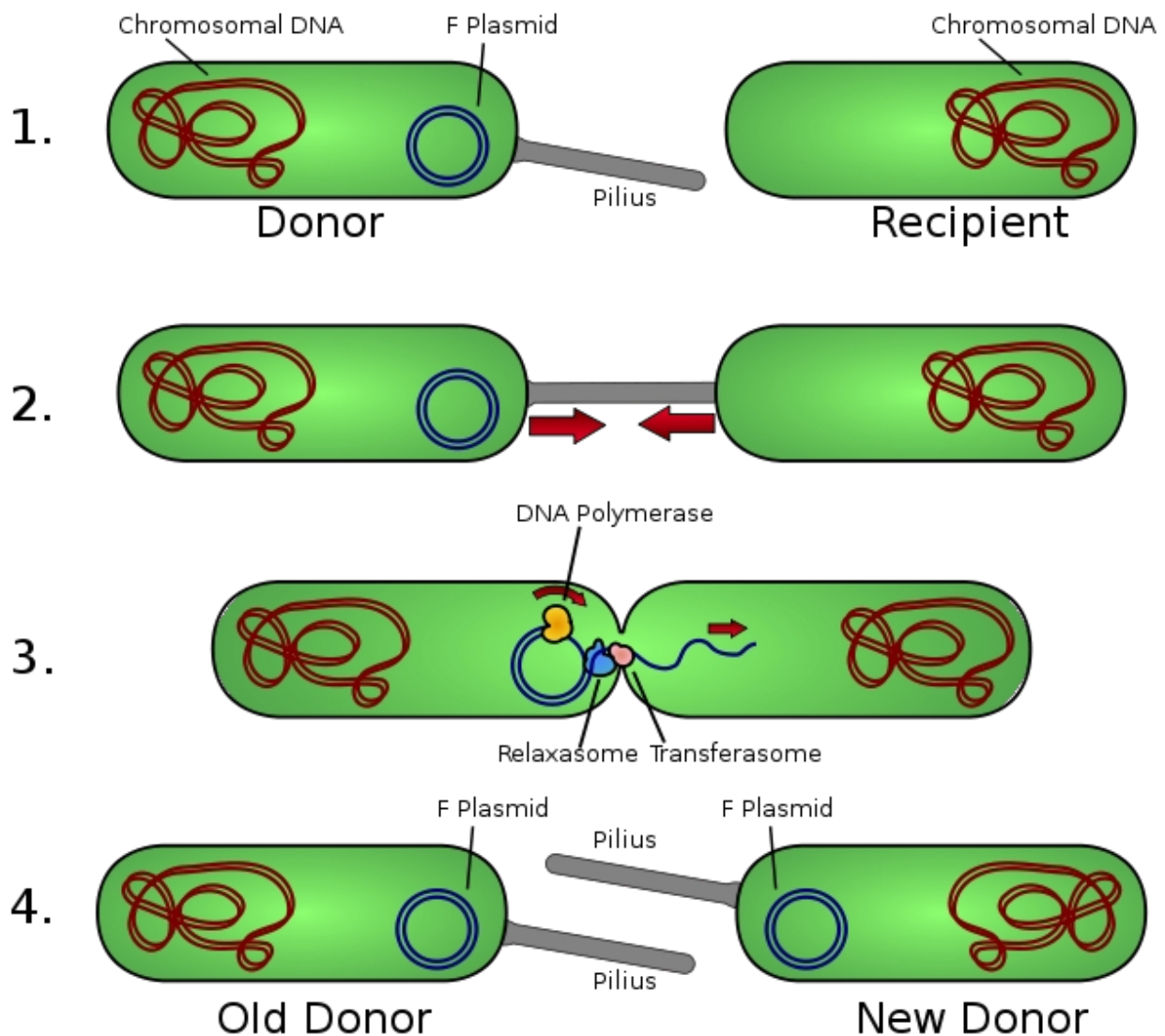
Per le cellule di tipo F+ ed F- il passaggio orizzontale di materiale genetico si può realizzare unicamente tramite la presenza di una FIMBRIA SESSUALE: si tratta di un organo cavo essenziale a mettere in comunicazione le due cellule e a rendere possibile il TRASFERIMENTO; il processo si svolge in questo modo:

- si sviluppa la FIMBRIA SESSUALE.
- le due cellule ENTRANO IN CONTATTO.
- COMINCIA LA REPLICAZIONE:
 - le due catene si separano.
 - le due catene vengono replicate.
- DELLE DUE COPIE CREATE DURANTE IL TRASFERIMENTO:
 - una copia permane nella cellula donatrice.
 - una copia va alla cellula ricevente.

Si tratta di una tecnica molto importante, la cellula RICEVENTE infatti:

- ACQUISISCE LA CAPACITÀ DI DONARE.
- ha ricevuto TUTTE LE INFORMAZIONI CONTENUTE NEL PLASMIDE.

Tra due cellule di tipo F+ non avvengono processi di donazione.



LE CELLULE HFR:

in queste cellule il plasmide F risulta integrato nel GENOMA BATTERICO e L'INTERO CROMOSOMA DELLA CELLULA SI COMPORTA COME UN IMMENSO PLASMIDE:

- il cromosoma si ROMPE a livello della sequenza F grazie alla sequenza ORI-T precedentemente citata.
- COMINCIA IL PROCESSO DI REPLICAZIONE E PASSAGGIO.
- Viene PASSATO IL CROMOSOMA DELLA CELLULA; questo può:
 - passare per intero alla cellula ricevente, in questo caso:
 - la cellula ricevente acquisisce tutto il materiale genetico del donatore.
 - non è in grado di ricomporre la sequenza plasmidica e permane una cellula di tipo F-.
 - passare alla cellula ricevente solo in modo PARZIALE e in questo caso:
 - la cellula ricevente acquisisce materiale.
 - Il plasmide F non passa nella sua interezza: una parte permane alla

coda della sequenza replicata. Anche in questo caso la cellula permane di classe F-.

in ogni caso si tratta di una tecnica che INCREMENTA MOLTISSIMO LA VELOCITÀ DI RICOMBINAZIONE DEL GENOMA BATTERICO: in particolare vengono trasmessi geni cromosomici; tali geni, giunti a livello della cellula ricevente, vengono confrontati con quelli già presenti e quello che funziona meglio viene mantenuto.

L'integrazione non è sempre un FENOMENO DEFINITIVO: il plasmide integrato in un batterio di tipo Hfr può anche riemergere in forma di plasmide libero. Durante tale PROCESSO DI PASSAGGIO IL PLASMIDE PUÒ ESSERE MODIFICATO PER ERRORE e includere GENI CROMOSOMICI NON PROPRI DEL FATTORE F, si tratta di un fenomeno tuttavia estremamente raro, infatti le probabilità sono:

- $1 \cdot 10^{-8}$ PER GENERAZIONE BATTERICA è la probabilità che il plasmide riemerge in forma libera.
- le probabilità che vi sia poi un errore durante la replicazione rendono questa evenienza ESTREMAMENTE RARA.

I TRASPOSONI:

si tratta di fenomeni legati alla genomica batterica che spesso sono alla base di diverse farmacoresistenze.

Sulla spinta della seconda guerra mondiale comincia una produzione MASSICCIA di penicillina: dall'ingresso di questo tipo di medicinale in commercio, è cominciata la lotta alle farmacoresistenze generate da antibiotici.

- LA PENICILLINA viene distrutta a livello batterico dalla PENICILLINASI: si tratta del primo ENZIMA legato ad una SPECIFICA FARMACORESISTENZA.
- LA METICILLINA è un derivato della penicillina resistente alla PENICILLINASI: dal momento della immissione sul mercato, nell'arco di pochi mesi si poterono osservare i primi ceppi di stafilococco METICILLINO RESISTENTI.

QUESTO STAFFILOCOCCO detto MRSA (meticillin resistente staphylococcus aureus) divenne contemporaneamente resistente A NUMEROSI FARMACI come:

- ◆ streptomina che agisce sui ribosomi.
- ◆ eritromicina che agisce sui ribosomi.
- ◆ Bactrin che combina due farmaci capaci di agire a livello della sintesi di DNA: sulfamidici e trimetoprim.

alla base di questo tipo di FARMACORESISTENZE DIFFUSE starebbe proprio UN TRASPOSONE.

Un TRASPOSONE è una sequenza genica caratterizzata da UNA ELEVATA FREQUENZA DI RICOMBINAZIONE ALL'INTERNO DEL CROMOSOMA DOVE SI COLLOCA: fondamentalmente si tratta di sequenze che si muovono nel cromosoma e che possono quindi attivarsi o inibirsi a seconda delle sequenze vicine. Complessivamente distinguiamo:

- sequenze di inserzione che contengono unicamente le parti necessarie al trasferimento.
- Trasposoni segmenti genici caratterizzati dalla presenza di geni differenti oltre ai geni di trasferimento e ricombinazione.

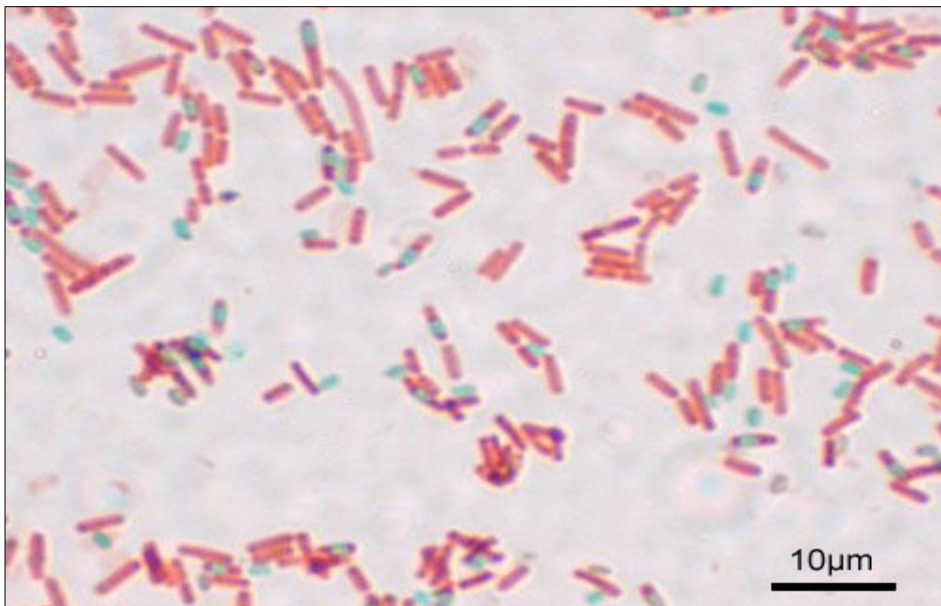
LE SPORE:

LA SPORA è una forma di cellula particolare modificata, prodotta da ALCUNE SPECIE BATTERICHE, in condizioni AVVERSE e caratterizzata da RESISTENZA A FATTORI FISICI E CHIMICI e dalla DORMIENZA BIOLOGICA.

Complessivamente possiamo dire che:

- la spora nasce da una cellula MADRE durante un processo divisionale anormale.
- Rispetto alla cellula madre, la spora è ESTREMAMENTE MODIFICATA e differisce profondamente da essa.
- Per quanto riguarda batteri capaci di questa genesi si parla di BATTERI SPORIGENI, tali batteri appartengono a due generi:
 - genere BACILLUS²⁵.
 - genere CLOSTRIDIUM²⁶.
- la particolare RESISTENZA DI QUESTA CELLULA si estrinseca soprattutto rispetto a:
 - calore: la presenza di spore rende spesso futile l'innalzamento della temperatura nella disinfezione, bisogna infatti raggiungere i 121°C a calore umido e mantenere tale temperatura per circa 10-15 minuti per eliminare tali resistentissime forme microbiche.
 - essiccamento.
 - pH estremi.
 - radiazioni.
 - assenza di sostanze nutritive.
- LA DORMIENZA BIOLOGICA è una particolare condizione in cui tali cellule NON METABOLIZZANO: il consumo di nutrienti viene ridotto a zero e questo rende possibile una sopravvivenza potenzialmente eterna.

Per IL TETANO in particolare spesso le spore vengono prodotte da forme vegetative emesse da animali erbivori: tali forme vegetative, se si trovano in una SITUAZIONE ESTREMA di mancanza di cibo e di acqua ed esposizione a temperature elevate o radiazioni, possono dare vita a SPORE.



Colonia di BACILLUS SOTTILIS che produce spore: le spore, vista la loro bassissima permeabilità, generalmente non sono visibili con i normali metodi di colorazione.

immagine tratta da wikipedia

STRUTTURA DELLA SPORA:

²⁵ per esempio il BACILLUM ANTRACIS.

²⁶ clostridium BOTULINUM e TETANI sono batteri che tipicamente producono spore.

La spora è più piccola della cellula madre ed è dotata di strutture estremamente solide; strutturalmente spostandoci dall'interno verso l'esterno possiamo ricordare che:

- centralmente si colloca un CITOPLASMA ESTREMAMENTE ASCIUTTO dotato del DNA COMPLETO ma impoverito ovviamente di numerosi enzimi.
- Uno strato fosfolipidico interno.
- CORTEX: si tratta di una struttura peptidoglicanica dotata di una grande quantità di cross link. Immerso in questa sostanza si colloca il DIPICALONATO DI CALCIO: TALE MOLECOLA IN NATURA SI TROVA SOLO NELLA PARETE DELLE SPORE.
- MEMBRANA ESTERNA normale, costituita di fosfolipidi.
- COATS si tratta di un rivestimento di proteine cheratino simili ricche di ponti disolfuro. Complessivamente si tratta di un involucro:
 - MOLTO ROBUSTO.
 - IMPERMEABILE.
- EXOSPORIUM si tratta di residui della cellula madre che vengono persi con il tempo.

I fattori che donano alla spora la sua estrema TERMORESISTENZA sono:

- ◆ il cortex.
- ◆ Il dipcalonato di calcio.
- ◆ La disidratazione.

i fattori che rendono possibile la impermeabilità OSMOTICA E A SOSTANZE CHIMICHE sono associati alla struttura del COATS.

i fattori che consentono alla spora di resistere a RADIAZIONI di vario tipo sono associati a molecole particolari, le SASP, cioè piccole proteine acido solubili, che sono capaci di COMPLESSARSI CON L'ACIDO NUCLEICO proteggendolo dalle radiazioni. Sembra inoltre che tali proteine fungano da materiale energetico durante il risveglio della spora.

LA SPORULAZIONE:

Il processo di replicazione che consente la formazione della spora da parte della cellula madre è strutturalmente, almeno per i batteri della classe CLOSTRIDIUM, ASIMMETRICO; complessivamente possiamo ricordare che il processo di sporulazione avviene in sette stadi:

1. REPLICAZIONE DEL MATERIALE GENETICO che viene associato come di consueto ad un MESOSOMA e si porta lateralmente rispetto all'asse della cellula.
2. FORMAZIONE DEL SETTO: la membrana della cellula batterica incrementa in dimensioni e si invagina ai due estremi della cellula fino a formare appunto un SETTO che divide il materiale genetico della spora dal materiale genetico della cellula madre.
3. La membrana della cellula madre continua a crescere e avvolge la spora di un secondo strato di membrana citoplasmatica.
4. FORMAZIONE DEL CORTEX che viene a collocarsi tra le due membrane che avvolgono la spora in formazione: si accumulano dipicalonato di calcio e altri materiali.

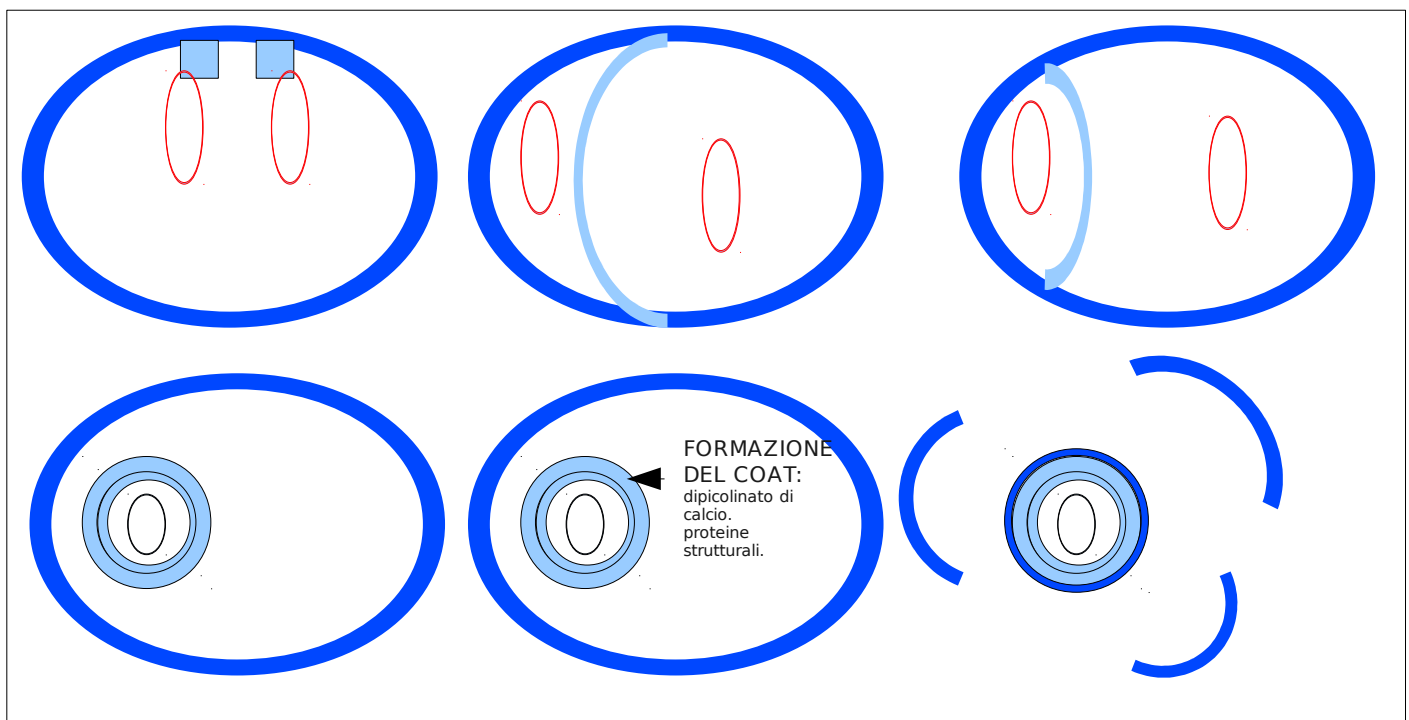
5. FORMAZIONE DEL COATS: le proteine necessarie vengono sintetizzate e posizionate intorno alla cortex neoformata.
6. MATURAZIONE DEFINITIVA DELLA SPORA.
7. A questo punto la cellula madre MUORE e la SPORA PERMANE RICOPERTA DELL'EXOSPORIUM che viene piano piano perso.

NEL CITOPLASMA DI UNA SPORA COMPLETA troviamo:

- poco ATP: 3 $\mu\text{m/g}$ contro 725 $\mu\text{m/g}$; la spora utilizza altre forme energetiche.
- l'energia viene accumulata in forma di ACIDO FOSFOGLICERICO, ancora più energetico rispetto all'ATP, che nella cellula madre non è presente.
- Sono presenti numerosi NUCLEOTIDI, essenziali per creare MATERIALE GENETICO ex novo una volta risvegliata la spora, in particolare:
 - rRNA.
 - nucleotidi.
- amminoacidi essenziali per quella che sarà la sintesi proteica.

Nella tabella i valori in millimoli per grammo di composti presenti all'interno di una cellula viva e all'interno di una spora:

composto	spora	cellula in crescita
ATP	3	725
ADP+AMP	544	195
GTP+CTP+UDP	<10	680
Nucleotidi G+C+U	530	860
deossiribonucleotidi	<1,5	11
acido fosfoglicerico	6800	0
aminoacidi	150	1400



LA ATTIVAZIONE DELLA SPORA:

Abbiamo visto come in situazioni avverse, quali calore e scarsità di acqua e ricchezza di radiazioni, si formino delle spore per la morte della cellula madre; la SPORA può tuttavia tornare indietro e ridivenire cellula vegetativa. Tale processo INIZIA unicamente nel caso IN CUI LE CONDIZIONI ESTERNE TORNINO FAVOREVOLI, ma per avere percezione di quale sia la situazione dell'ambiente circostante, LA SPORA DEVE DIVENIRE QUANTOMENO PARZIALMENTE PERMEABILE ALL'AMBIENTE ESTERNO. Sulla base di quanto detto distinguiamo quindi due processi:

- LA ATTIVAZIONE che consente alla spora di interfacciarsi con l'ambiente esterno; in natura generalmente spontaneamente con il tempo si assiste ad una PARZIALE PERDITA DI PERMEABILITÀ ma che non è assolutamente vincolata alla RIPRESA DELLA ATTIVITÀ CELLULARE. IL PROCESSO avviene, a livello molecolare, grazie alla apertura di ponti solfuro nei coats della spora; in generale sappiamo può avvenire per:
 - PRESENZA DI AGENTI RIDUCENTI.
 - CALORE.
 - ACIDI E BASI FORTI.
 - INVECCHIAMENTO.

Per innescare poi il processo di GERMINAZIONE delle molecole a potere attivante devono oltrepassare il COAT della cellula: in natura non sappiamo quali siano questi agenti germinanti, ma in vitro si utilizzano sali misti in particolare composti di:

- L-alanina.
- AGFK, cioè un sale composto di: L-alanina, glucosio, fruttosio e KCl.
- L-alanina e inositolo.

queste sostanze stimolano la RIATTIVAZIONE della spora CHE GERMINA. È importante sottolineare che dopo alcuni minuti di attività, la germinazione prosegue anche se il germinante viene rimosso dal mezzo.

- LA GERMINAZIONE: si tratta del processo che riporta la spora a divenire cellula vegetativa; complessivamente si assiste a:
 - rilascio di calcio e acido dipicolinico.
 - perdita della termoresistenza.
 - idrolisi del cortex.
 - reidratazione della spora.
 - RIACQUISIZIONE della attività metabolica con conseguente:
 - SINTESI DI RNA essenziale alla produzione di proteine.
 - DUPLICAZIONE DEL DNA.

GLI ANTIBIOTICI:

abbiamo visto con la sintesi del proteoglicano alcuni antibiotici che agiscono a livello della sintesi e della struttura della parete batterica; ricordiamo tuttavia che esistono altri antibiotici molto utili con target differenti:

- LA MEMBRANA CELLULARE che non è un buon bersaglio molecolare vista la estrema somiglianza tra le membrane cellulari batteriche e quelle eucariotiche; una classe di antibiotici che presentano questa azione molecolare sono le POLIMIXINE e in particolare la POLIMIXINA E o COLISTIN.

- IL DNA è possibile agire su di esso anche se è piuttosto difficile distinguere tra DNA batterico e DNA eucariotico; possiamo agire per esempio impedendo la sintesi delle basi necessarie. Ricordiamo:
 - SULFAMIDICI non sono veri e propri antibiotici, agiscono in quanto sono analoghi dell'acido paramminobenzoico, composto base necessario alla sintesi del tetraidrofolato che:
 - nell'uomo viene ingerito con la dieta.
 - Nel batterio viene direttamente sintetizzato.Il farmaco in questione quindi HA UNA TOSSICITÀ SELETTIVA ELEVATA.
 - TRIMETROPRIM: si tratta di un antibiotico che, analogamente al precedente, agisce a livello del TETRAIDROFOLATO, in particolare rispetto alla sua sintesi: BLOCCA L'AZIONE DELLA FOLATO REDUTTASI che agisce sul diidrofolato riducendolo a tetraidrofolato. Anche nell'uomo esiste questo tipo di enzima ma IL TRIMETROPRIM HA UNA SENSIBILITÀ MOLTO PIÙ SPECIFICA PER L'ISOFORMA BATTERICA.
 - BACTRIN: si tratta di un farmaco che combina i due principi precedentemente descritti andando a bloccare definitivamente la produzione di tetraidrofolato.
 - CHINOLICI: si tratta di farmaci che agiscono sulle girasi bloccando l'apertura del doppio strand del DNA e quindi IMPEDENDONE LA REPLICAZIONE.
- LA SINTESI PROTEICA: si sfrutta la differenza tra i diversi RIBOSOMI UMANI E BATTERICI per creare dei farmaci superspecifici:
 - STREPTOMICINA capostipite degli AMINOGLICOSIDICI, si tratta di farmaci ad uso limitato al di fuori dell'ambiente ospedaliero, sono molto importanti, ma hanno degli effetti collaterali consistenti:
 - nefrotossici.
 - ototossici.si utilizzano per questo sotto stretta sorveglianza medica.
 - ERITROMICINA e DERIVATI, fanno parte della famiglia dei MACROLIDI come la claritromicina.
 - TETRACICLINE si usano poco.
 - CLORANFENICOLO: si tratta di un farmaco tossico in maniera insolita: aggredisce il midollo spinale e provoca seri danni a livello anemico.
- TRASCRIZIONE A LIVELLO DI RNA:
 - RIFAMPICINA: agisce sulla RNA polimerasi; farmaco nato in Italia, ha consentito di portare a termine la lotta alla tubercolosi. Al momento è un farmaco base, non è tossico e viene metabolizzato a livello epatico ma mantiene attività antibatterica. L'unico effetto collaterale sono urine rosse e cute che si arrossa.

Esistono poi altri farmaci utili quali:

- METRONIDAZOLO: si tratta di un antibatterico utile contro batteri anaerobi e protozoi, molto utilizzato per la cura delle vaginosi. Commercializzato con il nome di flagyl.
- OMOPRAZOLO inibitore delle pompe protoniche, molto utilizzato per il

trattamento delle ulcere gastriche da helicobacter pylori.

L'ANTIBIOTICO RESISTENZA:

un batterio può diventare farmaco resistente sostanzialmente in tre modi diversi:

- **CREARE ENZIMI CHE MODIFICANO IL FARMACO** per esempio:
 - le penicillinasi che degradano i beta lattamici.
 - inserire gruppi chimici che alterano la molecola: per esempio antibiotici ricchi di ossidrilici possono esser neutralizzati tramite l'inserzione di gruppi fosforici, adenilici o simili.
- **MODIFICARE IL BERSAGLIO** per esempio:
 - la meticillina resistenza si basa sulla presenza di MRSA: si tratta di batteri che acquisiscono la capacità di sintetizzare una nuova **PENICILLIN BINDING PROTEIN** che presenta delle caratteristiche particolari:
 - lega pochissimo la meticillina, non viene quindi inibita, mentre le altre 4 molecole sensibili sì. Sa distinguere insomma il vero bersaglio enzimatico da quello artificiale antibiotico.
 - È una **PROTEINA MULTIFUNZIONALE**: esegue sia funzioni **CARBOSSIDEPTIDASICHE** che **TRANSGLICOSIDASICHE**.
IL TARGET DIVIENE MENO SENSIBILE ALLA ATTIVITÀ DELL'ANTIBIOTICO.
- **INCREMENTARE LA IMPERMEABILITÀ DELLA MEMBRANA ESTERNA**: in particolare rispetto alla presenza di porine, l'antibiotico viene bloccato all'esterno della cellula e non raggiunge la sua sede di azione.

IL PROBLEMA DELLE FARMACORESISTENZE:

L'essere resistente ad un farmaco ha naturalmente un prezzo per il batterio che generalmente presenta un ritmo di crescita rallentato. Lo streptococcus piogenes è da sempre sensibile alla penicillina, ma questo farmaco è difficile da utilizzare e si utilizza molto spesso la ERITROMICINA, un macrolide, che presenta:

- poca tossicità.
- facile amministrazione.
- Posologia semplice.

sette-otto anni fa lo streptococcus piogenes divenne resistente a tale farmaco, in modo **SOSTANZIALMENTE UBIQUITARIO**: questi batteri hanno cominciato a produrre **DELLE ABC, ATP binding cassette**, che **ESPELLONO IL FARMACO PENETRATO ATTRAVERSO LA MEMBRANA CELLULARE**. In Giappone decisero di togliere dal mercato la eritromicina di modo da impedire l'utilizzo di questo tipo di farmaco e con lentezza gli streptococchi stanno tornando farmacosensibili alla ERITROMICINA.

LA SCELTA DELL'ANTIBIOTICO:

si tratta di una scelta difficile tra numerosi farmaci differenti; a parità di efficacia generalmente la scelta viene effettuata:

- per costo.
- a livello clinico la sede della infezione è significativa in quanto **IL FARMACO DEVE RAGGIUNGERE IL BATTERIO**, per esempio una infezione urinaria deve essere curata con un tipo di farmaco capace di passare nelle urine.
- **IN GRAVIDANZA** alcuni farmaci non si possono utilizzare.
- **DURANTE L'ALLATTAMENTO** bisogna prestare attenzione al fatto che alcuni

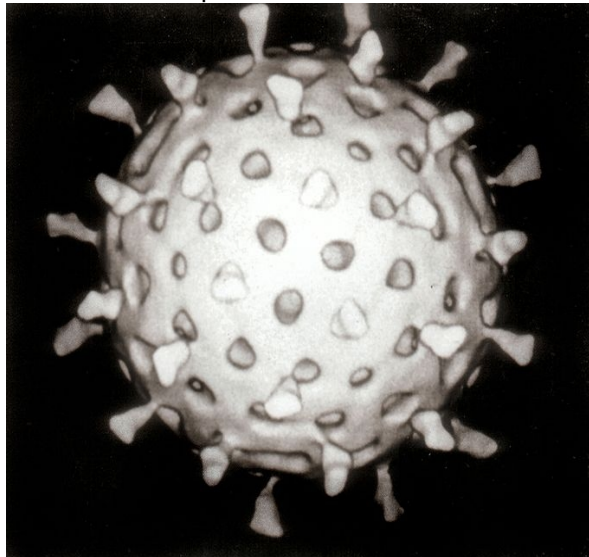
Giordano Perin; microbiologia 2: i batteri

farmaci passano nel latte materno.

Per evitare l'instaurarsi di farmaco resistenze ancor più pericolose delle attuali si cerca di utilizzare il più possibile medicinali in uso da tempo e di risparmiare molecole di nuova generazione.

I VIRUS

Possiamo riassumere la struttura del VIRUS come una INFORMAZIONE GENETICA, in forma di DNA o RNA, contenuta in un CAPSIDE a sua volta avvolto, eventualmente, da un PERICAPSIDE al cui presenza non è obbligata. Il pericapside può essere presente o meno, ma non si tratta di una componente facoltativa: quando presente è fondamentale per il virus.



DIFFERENZE fondamentali che rendono un virus diverso da tutti gli altri tipi di esseri viventi sono:

- la semplicità estrema della struttura che è acellulare.
- Presentano un unico tipo di sequenza genica o DNA o RNA¹.
- Non si possono riprodurre da soli.

A livello di dimensioni questi microorganismi vanno da 10 a 400nm (i più grandi in assoluto sono i poxvirus che presentano dimensioni di 400*200nm).

IL TROPISMO DEI VIRUS:

IL RAPPORTO TRA UN VIRUS E UNA CELLULA è un rapporto MOLECOLA MOLECOLA, le molecole virali, infatti, riconoscono le molecole CELLULARI tipiche di un dato tipo di cellula: questo avviene tramite la presenza di apposite proteine e molecole che:

- si collocano sul PERICAPSIDE quando presente
- si collocano sul CAPSIDE per i virus privi di pericapside.

In linea generale tali molecole si collocano SULLA PARTE PIÙ ESTERNA DEL VIRIONE o complesso virale.

SI IDENTIFICANO sulla base della presenza di tali molecole dei fenomeni di TROPISMO che possono essere:

- TROPISMO D'OSPITE per cui un virus riconosce come ospite un unico tipo di organismo o specie².

1 Fa eccezione il CITOMEGALOVIRUS che presenta una sequenza di DNA e quattro Mrna.

2 Per esempio l'HIV non è capace di infettare il gatto e l'FHV non è capace di infettare l'uomo.

- TROPISMO D'ORGANO che rendono un virus compatibile con un dato organo: alcuni esempi sono il virus della epatite o il virus della congiuntivite.

LA CLASSIFICAZIONE DEI VIRUS:

i virus sulla base di diverse caratteristiche che presentano sono classificabili in:

VIRUS CON PERICAPSIDE E SENZA PERICAPSIDE:

il pericapside altro non è se non un tratto della membrana cellulare dell'ospite opportunamente modificato come vedremo; in particolare distinguiamo:

- VIRUS CON PERICAPSIDE sono la maggior parte in assoluto; ricordiamo:
 - Herpesvirus.
 - Poxvirus.
 - Hepadnavirus.
 - Togavirus.
 - Mixovirus.
 - Retrovirus.
 - Rhabdovirus.
 - Coronavirus.
- VIRUS NUDI cioè privi di pericapside che sono per esempio:
 - adenovirus.
 - papovavirus.
 - parvovirus.
 - picornavirus.
 - reovirus.

LA FORMA DEL CAPSIDE:

il capsido può presentare due tipologie morfologiche:

- può essere regolare e specifica e tali virus sono detti VIRUS CON SIMMETRIA CUBICA³ O EICOSAEDRICA; una capsido a forma eicosaedrica presenta generalmente 20 facce a forma di triangolo equilatero e 12 vertici⁴. Sono per esempio:
 - poxvirus.
 - Picornavirus.
 - Adenovirus.
 - Parvovirus.
 - Togavirus.
 - Herpesvirus.
 - Hepadnavirus.
 - Lentivirus.
- Può essere irregolare o organizzata come un semplice avvolgimento e si parla allora di SIMMETRIA ELICOIDALE; in questo caso una guaina proteica AVVOLGE A FORMA DI ELICA IL MATERIALE GENETICO DEL VIRUS. Alcuni esempi sono:
 - rhabdovirus.
 - Filoviridae tra cui Ebola.
 - Myxovirus.

³ Un esempio è il virus dell'epatite C.

⁴ Per esempio l'HPV, componente dei PAPOVAVIRUS, presenta un capsido eicosaedrico a 72 capsomeri.

L'ORGANIZZAZIONE DEL GENOMA VIRALE:

IL GENOMA all'interno del CAPSIDE può essere scritto in forma di:

- DNA che a sua volta può essere presente in forma:
 - monocatenaria: un'unica famiglia di virus appartiene a questa categoria: si tratta dei parvovirus.
 - bicatenaria come avviene nella maggior parte dei casi:
 - poxvirus.
 - herpesvirus.
 - adenovirus.
 - papovavirus.
 - hepadnavirus.
- RNA che anche in questo caso può essere presente in forma:
 - monocatenaria come avviene nella maggior parte dei casi:
 - myxovirus a polarità negativa.
 - Picornavirus a polarità positiva.
 - Retrovirus a polarità positiva.
 - Togavirus a polarità positiva.
 - Rhabdovirus a polarità negativa.

questo è dovuto al fatto che generalmente l'RNA deve essere codificato.

- Bicatenaria: l'unica famiglia di virus che presenta un genoma organizzato in questo modo è quella dei reovirus.

L'RNA PUÒ ESSERE QUINDI DI TIPO SENSE O NON SENSE dove la sequenza SENSE codifica, quella NONSENSE è complementare alla sequenza codificante; su questa base distinguiamo:

- VIRUS A POLARITÀ POSITIVA se la sequenza è sense.
- VIRUS A POLARITÀ NEGATIVA se la sequenza è nonsense.

Un virus non può presentare sia RNA che DNA, è vincolato ad una delle due forme⁵.

IL VIRUS HERPES SIMPLEX O HSV1:

si tratta di un virus:

- dotato di pericapside.
- Dotato di DNA.
- A forma elicoidale.

L'herpes simplex di tipo 1 ha un tropismo per l'uomo e come tale risulta compatibile unicamente con esso, si tratta del virus dell'herpes labiale. Questo virus in particolare agisce, per la sua struttura, in questo modo:

LA PENETRAZIONE DEL VIRUS:

tutti i virus per infettare una cellula, devono raggiungere la cellula bersaglio ed interagire con essa riconoscendola; HSV1 si lega quindi strettamente AL RECETTORE CELLULARE. A QUESTO PUNTO:

- IL PERICAPSIDE viene fuso con la membrana citoplasmatica.
- IL CAPSIDE penetra nella cellula.

IL GENOMA VIRALE deve in ogni caso entrare al NUCLEO: necessita infatti di enzimi che si possono trovare unicamente in questa sede della cellula bersaglio: giunto alla membrana nucleare rilascia all'interno del nucleo IL SUO DNA.

⁵ Come si accennava fa eccezione il citomegalovirus.

TRASCRIZIONE DEL MATERIALE GENETICO:

Per poter agire a livello pratico il virus deve:

- anzitutto far TRASCRIVERE il suo MATERIALE GENICO per FARE TANTE COPIE DI sé STESSO. Il virus generalmente utilizza una DNA POLIMERASI DNA DIPENDENTE di origine virale principalmente. In questo caso il virus codifica la sua DNA polimerasi che viene prodotta con il primo ciclo di trascrizione.
- far TRADURRE IL MATERIALE GENETICO codificato dal genoma iniettato: tale azione viene compiuta da una RNA POLIMERASI DNA DIPENDENTE, spesso cellulare.

Al termine del processo il virus avrà REPLICATO E TRADOTTO TUTTE LE SUE COMPONENTI.

LA INCAPSIDAZIONE:

una volta composte le proteine necessarie alla formazione del capsido, il virus HSV1 deve essere assemblato dalle sue componenti, in particolare il processo avviene in questo modo:

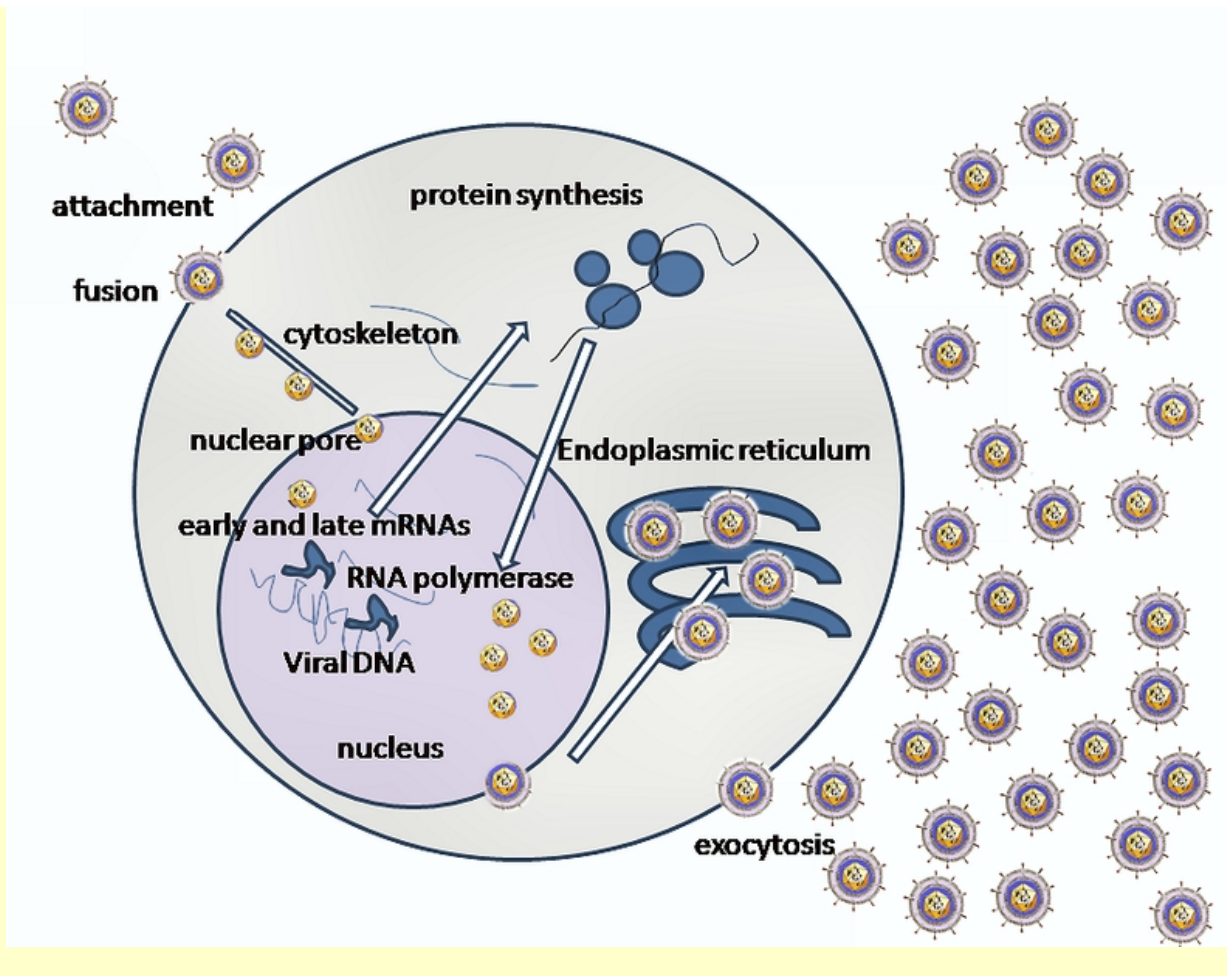
- le proteine si spostano all'interno del nucleo.
- interagiscono con delle PROTEINE SCAFFOLD: si tratta di proteine che SI METTONO INSIEME A FORMARE UNA IMPALCATURA che GUIDERÀ LE PROTEINE DEL CAPSIDE NELLA LORO ORGANIZZAZIONE.
- la proteina SCAFFOLD viene digerita ed eliminata dalle proteine del CAPSIDE che la degradano.
- OGNI CAPSIDE A QUESTO PUNTO PRELEVA IL SUO GENOMA e lo integra al suo interno.
- IL CAPSIDE NEOFORMATO deve essere inviato fuori dal nucleo, questo avviene tramite proteine apposite che:
 - da un lato si associano al capsido neoformato.
 - Dall'altro permeabilizzano la membrana della cellula.

RILASCIO DEL VIRUS MATURO:

Durante i processi di replicazione e traduzione del genoma virale, alcune molecole proteiche, codificate e attivate dal VIRUS STESSO e dalla sua invasione, VENGONO SINTETIZZATE E DALL'APPARATO DEL GOLGI INVIATE ALLA MEMBRANA CELLULARE che si modifica in senso strutturale. A questo punto:

- il virus viene associato ad una vescicola che lo porta verso la membrana cellulare.
- Il virus esce dalla cellula portando con sé PARTE DELLA MEMBRANA MODIFICATA che costituisce il PERICAPSIDE.

Un virus di questo tipo replica in circa 7-8 ore.



L'INFEZIONE VIRALE:

Un virus, infettata la cellula, per riprodurre sé stesso deve svolgere delle azioni specifiche:

- riconoscere la cellula da infettare: questo avviene in modo estremamente specifico.
- attaccare la cellula.
- penetrare nella cellula.
- scapsidizzare.
- FAR TRASCRIVERE IL SUO GENOMA VIRALE e SINTETIZZARE il materiale proteico virale.
- assemblarsi.
- liberarsi dalla cellula che lo ha ospitato.

IL RICONOSCIMENTO:

in assenza di tale fase l'infezione non comincia nemmeno⁶. I meccanismi di TROPISMO sono essenziali in questa fase, in particolare ricordiamo, come già accennato, che un virus può presentare:

- TROPISMO D'OSPITE.

⁶ questo è tanto vero che possiamo dire che una infezione virale TERMINA NEL MOMENTO IN CUI LA PRODUZIONE ANTICORPALE SIA SUFFICIENTE A INIBIRE IL SITO DI LEGAME TRA CELLULA E VIRUS.

- TROPISMO D'ORGANO.

LA PENETRAZIONE:

il processo è differente nel caso in cui vi sia o meno il pericapside:

- se il VIRUS HA IL PERICAPSIDE questo viene fuso con la membrana della cellula da INFETTARE e penetrano unicamente il capsido e il suo contenuto.
- se il virus è PRIVO DI PERICAPSIDE semplicemente penetra nella cellula per endocitosi.

al termine di questa fase il CAPSIDE si trova, in ogni caso, nel citosol della cellula.

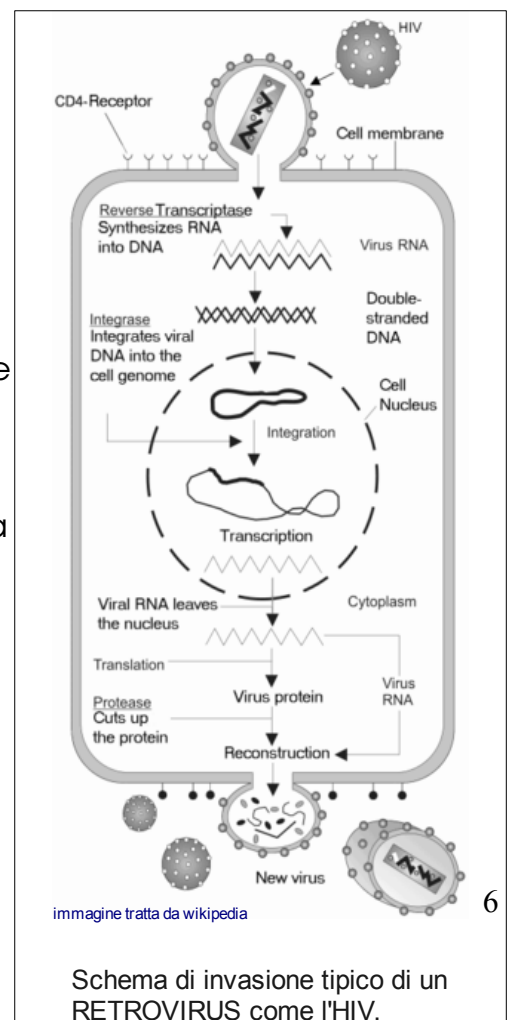
SCAPSIDIZZAZIONE:

il virus perde il suo capsido e il DNA permane nudo: il VIRUS SPARISCE DI FATTO, non è visibile nemmeno al microscopio elettronico.

LA REPLICAZIONE VIRALE:

è necessario, a prescindere da quale sia la natura del virus, REPLICARE e TRADURRE il GENOMA BATTERICO, le fasi e le modalità con cui questo avviene sono differenti poi a seconda del TIPO DI VIRUS, in particolare:

- VIRUS A DNA BICATENARIO: come il virus erpetico che presenta un DNA a doppia elica; il materiale genetico:
 - viene TRASCRITTO DA UNA RNA POLIMERASI DNA DIPENDENTE formando mRNA: il virus in questo caso utilizza l'enzima cellulare.
 - comincia la TRADUZIONE del messaggio, verranno sintetizzate:
 - proteine strutturali.
 - proteine recettoriali.
 - enzimi come la DNA POLIMERASI DNA DIPENDENTE che trascrive il DNA che deve ESSERE INSERITO NEL CAPSIDE.
- VIRUS A DNA MONOCATENARIO, in questo caso:
 - la DNA POLIMERASI CELLULARE trasforma il DNA IN BICATENARIO e il processo procede analogamente al precedente.
- VIRUS A RNA CON POLARITÀ POSITIVA, si tratta di un genoma che funziona come MESSAGGERO, il tutto si svolge in questo modo:
 - l'RNA MESSAGGERO viene semplicemente complessato con i ribosomi formando proteine.
 - l'RNA VIENE REPLICATO DA UNA RNA POLIMERASI RNA DIPENDENTE: tale enzima non è presente nelle cellule, si tratta quindi di un enzima VIRALE e deriverà chiaramente dal primo ciclo di sintesi.
 - La replicazione SINTETIZZA UN RNA NEGATIVO di tipo nonsense che non può certamente essere inserito nel capsido virale.

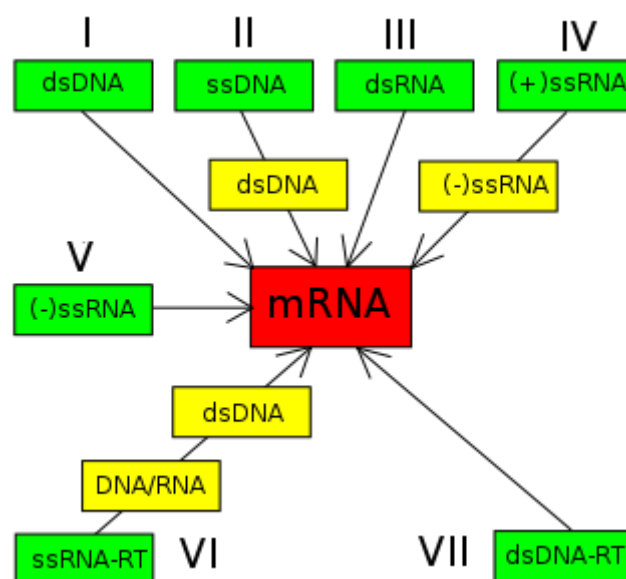


- Interviene quindi una RNA POLIMERASI RNA negativo DIPENDENTE che produce un RNA COMPLEMENTARE A QUELLO INIZIALE, quindi POSITIVO, che sarà poi inserito nel capside virale.
- Per questi virus l'RNA è sufficiente a eseguire tutte le operazioni.
- VIRUS A RNA CON POLARITÀ NEGATIVA, tale genoma viene inserito nella cellula, ma non ha capacità di sintesi proteica, quindi:
 - una RNA POLIMERASI RNA negativo DIPENDENTE GENERA UN RNA POSITIVO che codifica per le proteine virali; tale molecola:
 - NON PUÒ ESSERE UNA PROTEINA SINTETIZZATA NELLA CELLULA per il semplice fatto che non ha nessun senso per la cellula stessa produrre un enzima di questo tipo.
 - deve provenire dal CAPSIDE VIRALE in quanto ne era stata inclusa precedentemente.
 - una RNA POLIMERASI RNA positivo DIPENDENTE GENERA QUINDI UN RNA NEGATIVO che può essere incluso nel capside.
- RETROVIRUS: si tratta di virus che presentano un comportamento insolito: questi virus presentano come materiale genetico una molecola di RNA e utilizzando un ENZIMA VIRALE PARTICOLARISSIMO che trascrive DNA a partire dall'RNA VIRALE. Complessivamente il virus:
 - entra nella cellula.
 - il suo RNA POSITIVO:
 - non entra in contatto con complessi RIBOSOMIALI.
 - diviene substrato della TRASCRITTASI INVERSA.

La TRASCRITTASI INVERSA è un enzima che forma DNA VIRALE che viene integrato nel GENOMA CELLULARE DIVENENDONE PARTE INTEGRANTE.

- il virus EMERGE IN FORMA NORMALE e viene REPLICATO.

L'obiettivo fondamentale è quello di trasformare il genoma VIRALE, di qualunque tipo sia, in mRNA che viene TRADOTTO.



ASSEMBLAGGIO:

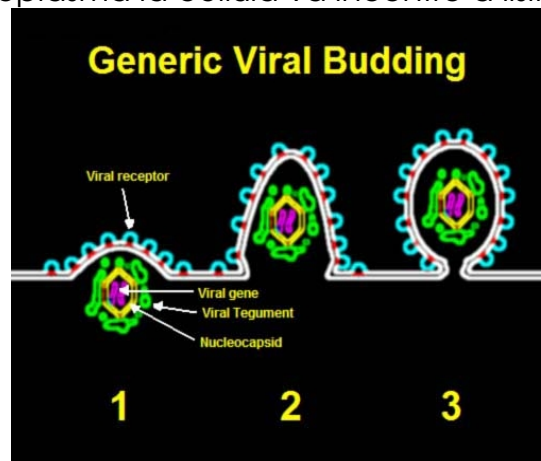
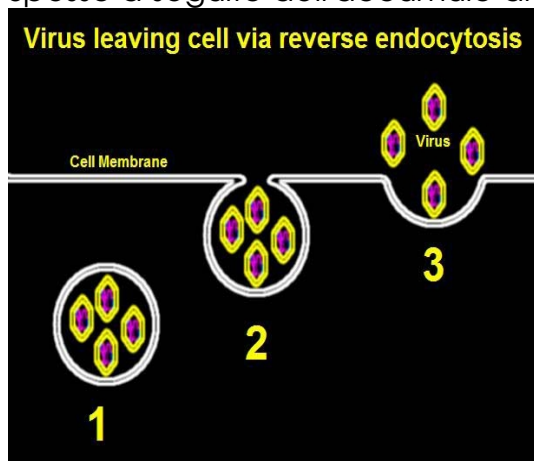
che può essere aiutato da scaffolds o no ma che in linea generale avviene a livello NUCLEARE dove viene replicato anche il materiale genetico del batterio; sono possibili numerosissime varianti ovviamente.

LA FUORIUSCITA DEL VIRUS:

anche in questo caso la modalità dipende dal tipo di virus:

- se ha il pericapside:
 - durante i processi di sintesi virale LA CELLULA HA ESPOSTO SULLA MEMBRANA ALCUNE PROTEINE VIRALI che il virus riconosce.
 - si associa alla MEMBRANA.
 - viene ESOCITATO PORTANDO CON SE UNA PARTE DELLA MEMBRANA CELLULARE che costituirà il PERICAPSIDE.
- se il virus non presenta pericapside, viene esocitato.

Spesso a seguito dell'accumulo di virioni nel citoplasma la cellula va incontro a lisi.



Nel caso in cui il sistema immunitario abbia a che fare con virus con pericapside, VIENE RICONOSCIUTA LA MEMBRANA MODIFICATA DEL VIRUS e la cellula stessa VIENE ATTACCATA.

COME SI COLTIVA UN VIRUS:

il virus è un parassita obbligato di cellule; un virus si può, quindi, coltivare:

- inoculandolo in un animale: si coltiva il virus, ma tale procedura non ha nessun significato diagnostico:
 - spesso il virus non ha TROPISMO compatibile con altri organismi.
 - lavorare con animali inoltre crea dei problemi a livello economico ed organizzativo che non possono essere presenti in un ospedale.
- inoculazione nell'uovo embrionato di pollo.
- inoculazione in colture cellulari in vitro: si tratta della tecnica ad oggi più utilizzata.

le ricerche sulla INOCULAZIONE IN COLTURE CELLULARI IN VITRO furono inaugurate da RENATO DULBECCO: il ricercatore lavorò molto per tentativi fino a riuscire a trovare una metodologia soddisfacente:

- ricevette un campione neoplastico di un utero umano.
- sminuzzò tale campione macroscopico.
- disgregò il preparato enzimaticamente.

- immerse a questo punto cellule separate tra loro in un TERRENO DA LUI INVENTATO detto MEM (minimal essential medium) DULBECCO; tale terreno viene preparato ancora oggi per far crescere le cellule neoplastiche utili a questo tipo di esperimenti.
- le cellule CRESCONO e occupano tutto il terreno.
- le cellule vengono staccate dal terreno e:
 - diluite.
 - spostate in altri recipienti.CREANDO DIVERSI CAMPIONI utilizzabili.

HeLa fu la prima linea cellulare coltivata, si tratta di un campione cellulare estremamente utile, molto fertile e utilizzatissima ancora oggi.

Fondamentalmente il virus, se presente nelle cellule, dà vita ad un effetto CITOPATICO che è differente da specie a specie e risulta quindi identificabile. Altre applicazioni verranno discusse in seguito.

LA STERILIZZAZIONE:

La sterilizzazione è il procedimento che porta alla **COMPLETA UCCISIONE** di **TUTTI I MICROORGANISMI VIVENTI**. È un termine assoluto, un oggetto può essere sterile o non sterile, non esistono forme intermedie.

Tale operazione **NON COMPORTA L'ELIMINAZIONE DELLE COMPONENTI MICROBICHE**: a seguito di una sterilizzazione i batteri, per esempio, non scompaiono: se nel campione disinfettato erano presenti batteri **GRAM NEGATIVI** e questo viene inoculato, il lipolisaccaride di membrana entra in circolo e provoca seri danni.

Possiamo distinguere in realtà due termini:

- **DISINFEZIONE**: che significa uccisione delle specie patogene.
- **STERILIZZAZIONE**: che invece prevede la eliminazione assoluta di tutti i microorganismi.

STERILIZZAZIONE in LABORATORIO:

- **IN LABORATORIO**:
 - tutto quanto viene utilizzato deve essere sterile: le operazioni che verranno eseguite con questo tipo di strumenti devono essere più pulite il possibile dal punto di vista procedurale. in caso contrario le analisi possono risultare **ALTERATE**.
 - tutto il materiale infetto utilizzato deve essere sterilizzato prima della eliminazione.
- **IN CLINICA** tutto quanto utilizzato sul paziente deve essere sterile:
 - ferri chirurgici.
 - farmaci iniettabili.
 - garze.
 - cateteri.
 - endoscopi.

analogamente al caso precedente, tutto quanto utilizzato deve essere **STERILIZZATO** prima della sua eliminazione.

METODI DI STERILIZZAZIONE:

si distinguono metodi di tipo **CHIMICO** e **FISICO**:

- **METODI FISICI**:
 - **CALORE** si tratta del sistema più utilizzato e facilmente realizzabile, in particolare distinguiamo due tipologie di calore:
 - calore secco ottenuto tramite **FORNI** o **STUFE**: bisogna mantenere il materiale per circa 3 ore a 180 gradi per ottenere una sterilizzazione totale.
 - calore umido: è molto più efficace, si tiene il materiale per circa mezz'ora a 121 gradi centigradi e si ottiene una sterilizzazione completa. Per questo tipo di procedimenti si utilizza **L'AUTOCLAVE**: si tratta di un macchinario capace di generare un aumento di pressione che consente un incremento della temperatura del vapore acqueo fino a 121°C. La migliore qualità di questo tipo di sistema è legata al

fatto che il vapore d'acqua è:

- più penetrante rispetto al semplice calore.
- a contatto con la superficie da disinfettare condensa e cede calore all'oggetto.

il sistema è quindi molto più efficace. Inoltre a 121°C si conservano molte più cose rispetto a quanto non avvenga a 180 gradi.



- RADIAZIONI in particolare:
 - UV ultraviolette: si utilizza moltissimo in forma di TUBI GERMICIDI che danno una illuminazione minima, ma alterano il DNA DEL MICROORGANISMO formando dimeri di timina. Tali raggi spesso non hanno effetto in quanto:
 - hanno una portata piuttosto limitata.
 - devono essere diretti in modo estremamente specifico.
 - RX o raggi X.
 - RAGGI GAMMA.

generatori di raggi X e gamma hanno bisogno di SCHERMATURE CONSISTENTI e di IMPIANTI MOLTO GRANDI, per questo motivo vengono utilizzati soprattutto dalle aziende: si utilizzano per la sterilizzazione di enormi quantità di materiali che vengono poi impiegati in clinica o in laboratorio.
- LA ULTRAFILTRAZIONE: esistono dei materiali che non possono essere sterilizzati con i metodi precedentemente descritti, in questi casi si fa PASSARE LA SOSTANZA ATTRAVERSO PORI DI DIMENSIONI TANTO PICCOLE DA NON FAR PASSARE MICROORGANISMI di modo da ripulire la soluzione. In realtà attraverso questo tipo di filtri i virus passano, di conseguenza il composto non sarà sterile.
- METODI CHIMICI che sfruttano la capacità di agenti chimici di creare ambienti non vivibili per microorganismi pericolosi:
 - ACIDI E BASI: non si possono utilizzare nella quotidianità in quanto sono molto pericolosi, ricordiamo:
 - acido solforico.
 - acido cloridrico.
 - idrossido di sodio.

- idrossido di calcio.
 - METALLI PESANTI: in particolare:
 - HgCl che sublimato è corrosivo: si utilizzava prima della PENICILLINA per la profilassi alla Credè contro la Gonorrea.
 - Mercurocromo.
 - Mertiolo.
 - ALOGENI:
 - tintura di Jodio.
 - cloro (KClO).
 - OSSIDANTI come:
 - acqua ossigenata.
 - ozono.
 - ALCOLI come l'alcool etilico che, anche se è poco efficace, è oggi tra i composti più utilizzati.
 - ALCHILANTI come:
 - aldeide formica: in forma di FORMICROL soprattutto viene utilizzata contro il mal di gola.
 - ossido di etilene.
 - FENOLI, non si utilizza il fenolo puro per il suo forte potere cancerogeno e tossico, ma composti quali:
 - cresolo.
 - creolina.
 - lisolo.
 - esaclorofene.
 - TENSIOATTIVI:
 - sali di ammonio quaternario.
- questi composti agiscono come semplici saponi.

Nella tabella riportiamo l'efficienza rispetto a batteri o virus dei vari disinfettanti chimici:

disinfettante	battericida	sporicida	miceticida	virucida
ossidanti	sì	sì	sì	sì
alogeni	sì	lentamente	sì	sì
alcoli	sì	no	sì	sì
aldeidi	sì	lentamente	sì	sì
fenoli	sì o batteriostatico	no	sì	sì variabile
ossido di etilene	sì	no	sì	sì
detergenti	sì variabile	no	fungistatico	no
clorexidina	batteriostatico	no	fungistatico	virostatico

LE INFEZIONI:

con il termine infezione si intende l'impianto e la moltiplicazione di microorganismi nei tessuti dell'ospite; questo non coincide con la malattia: la coabitazione con numerosi saprofiti tipica del nostro corpo, non è certo una malattia, anzi ci è spesso indispensabile per svolgere numerose funzioni metaboliche. Solo quando QUESTI MICROBI PROVOCANO UN DANNO allora POTREMMO PARLARE DI MALATTIA.

LA MALATTIA è fondamentalmente una INFEZIONE CHE SI TRADUCE IN DANNO.

I PATOGENI CONVENZIONALI:

un microorganismo per provocare una malattia da INFEZIONE deve trovarsi in date condizioni e deve compiere delle azioni precise; i PATOGENI CONVENZIONALI sono patogeni che NORMALMENTE DANNO MALATTIE DA INFEZIONE: le malattie provocate da questo tipo di microorganismi sono state molto spesso eliminate.

I PATOGENI CONDIZIONALI:

i patogeni convenzionali sono patogeni che diventano pericolosi quando si trovano in date condizioni specifiche, quando cioè viene data loro la possibilità di farlo.

Esempi di questo tipo di patogeni sono:

- un PATOGENO CONVENZIONALE è lo stafilococco aureus.
- Un PATOGENO CONDIZIONALE è lo stafilococco epidermidis o albus.

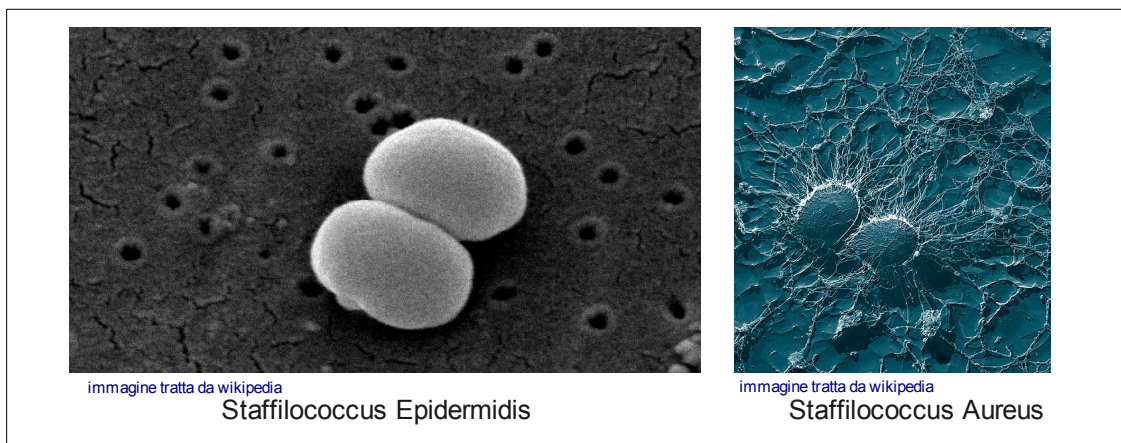
FONDAMENTALMENTE ricordiamo che un patogeno condizionale non ha potere di infettare l'organismo a meno che non vengano ad esso fornite condizioni apposite; QUINDI:

- LO STAFFILOCOCCUS AUREUS è strettamente associato a infezioni molto significative e pericolose.
- LO STAFFILOCOCCUS EPIDERMIDIS è il tipico patogeno capace di dare infezioni da CORPO ESTRANEO, per esempio:
 - cateteri come il catetere venoso centrale.
 - nutrizione parenterale.

Un tempo lo stafilococcus epidermidis non veniva considerato assolutamente pericoloso, ma oggi sappiamo che tale batterio:

- vive normalmente sulla cute del paziente.
- è capace di aderire in modo molto forte oggetti di plastica e metallici.
- tramite questo tipo di oggetti raggiunge il sangue e può provocare infezioni molto gravi.

Le nuove tecniche hanno creato le condizioni utili allo stafilococcus epidermidis per provocare danni anche seri.



In chirurgia oggi:

- si utilizzano moltissime protesi.
- le ferite chirurgiche sono per certi interventi molto consistenti, tali ferite sono molto pericolose dal punto di vista della INFEZIONE.

questo rende molto più pericolosi numerosi processi di natura infettiva.

LA GENESI DELL'INFEZIONE:

Per provocare una MALATTIA il microorganismo deve compiere numerose azioni diverse, in particolare:

- deve RAGGIUNGERE L'OSPITE.
- deve PENETRARE nell'organismo dell'OSPITE.
- deve MOLTIPLICARSI NEI TESSUTI sia che si tratti di un batterio, un fungo o un virus.
- deve SOPRAVVIVERE ALLE DIFESE DEL CORPO CHE INVADE, e lo può fare in due modi:
 - o RESISTE ai sistemi di difesa.
 - o riesce a NON STIMOLARE i sistemi di difesa.

solo UNA VOLTA COMPIUTO TUTTO QUESTO IL BATTERIO PUÒ PROVOCARE DANNI A TESSUTI E ORGANI, CIOÈ MALATTIE.

LE VIE DI INFEZIONE:

un patogeno può attaccare un organismo in modi molto diversi, in particolare ricordiamo:

- via AEROGENA: si tratta della via a maggiore efficienza, dal punto di vista virale soprattutto. Con la tosse soprattutto vengono prodotti AEROSOL di BATTERI O VIRUS che si propagano e vengono trasmessi COME:
 - varicella.
 - morbillo.
 - pertosse.

si tratta di una via che consente lo SPREADING di microorganismi anche molto fragili COME LA BORDETELLA PERTUSSIS: questo microorganismo è estremamente fragile e fuori dal corpo umano muore con una facilità incredibile, tuttavia una volta prodotta l'aerosol, il batterio è esposto all'ambiente esterno per un tempo MINIMO non sufficiente a garantirne la

eliminazione.

- VIA OROFECALE: numerosi microorganismi si propagano in questo modo. Un malato di infezioni dell'apparato digerente molto spesso con le FECI CONTAMINA L'AMBIENTE, da questa contaminazione possono generare:
 - acqua infetta.
 - cibi contaminati.per impedire questo tipo di fenomeni sono necessari standard sanitari elevati, in particolare:
 - le acque fognarie devono essere separate dalle acque bianche che vengono bevute normalmente.
 - la eliminazione delle acque fognarie deve essere seguita con cura.Tali infezioni oggi sono debellate per la gran parte, si possono trovare per esempio:
 - Soprattutto al sud dove per investimenti scarsi o sbagliati, lo standard igienico è più basso.
 - Nei paesi del terzo mondo dove queste malattie sono spesso endemiche.
- VIA SESSUALE: attraverso tale via non si trasmettono solo malattie veneree, caratterizzate da manifestazione a livello genitale, ma anche malattie trasmesse per via sessuale che non hanno carattere venereo quali:
 - AIDS.
 - EPATITE B.

Esistono poi anche vie di trasmissione che prevedono VETTORI come:

- MALATTIE che richiedono la presenza di un VETTORE DIRETTO per essere trasmesse, in particolare ricordiamo:
 - malaria.
 - filariasi.generalmente i vettori sono degli insetti o simili, in particolare la zanzara che veicola il protista della malaria è la zanzara anopheles.
- MALATTIE PER LE QUALI L'UOMO È OSPITE ACCIDENTALE come la BRUCELLOSI: si tratta di una malattia bovina che porta alla formazione per esempio di latte infetto nell'animale, la malattia tramite tale mezzo finisce per infettare anche l'uomo.
- MALATTIE NON UMANE MA CHE POSSONO ESSERE TRASMESSE ALL'UOMO: la PESTE BUBBONICA per esempio presenta a seconda dello stadio modalità di trasmissione differenti. In particolare:
 - nella fase PRODROMICA la trasmissione è unicamente tra animale e animale.

- nelle fasi SUCCESSIVE e MANIFESTE la patologia diviene pericolosa anche per l'uomo.



Zanzara anopheles vettore della malaria.



Oropsylla montana vettore della peste bubbonica.

LE VIE DI ACCESSO DEL PATOGENO:

- VIA ANALE.
- VIA ORALE.
- VIA UROGENITALE.
- LA CONGIUNTIVA: si tratta di una via particolarmente aperta.
- CUTE che deve essere interrotta questo avviene generalmente:
 - per morsi di insetti e punture.
 - per ferite.
 - per ustioni.

LE DIFESE DEL NOSTRO CORPO:

Anche una volta penetrato tramite una di queste vie, IL MICROORGANISMO DEVE VINCERE I PRESIDI DIFENSIVI DELL'ORGANISMO UMANO:

MECCANISMI DIFENSIVI DELL'APPARATO RESPIRATORIO:

A LIVELLO DEL TRATTO RESPIRATORIO che è difeso in modo molto consistente:

- il NASO è una convessità anatomica di per sé stessa difficile da superare vista soprattutto la presenza di numerose VIBRISSE.
- il SISTEMA MUCOCILIARE: si tratta di un sistema di difesa associato a sostanzialmente al tratto respiratorio inferiore, in particolare organizzato grazie alla collaborazione tra:
 - MUCO.
 - CILIA MOTILI.

che sono capaci di intrappolare ed espellere agenti patogeni.

FATTORI CHE POSSONO ABBASSARE LE DIFESE DELL'APPARATO RESPIRATORIO:

numerosi fattori possono danneggiare questo sistema di difesa:

- INFEZIONI VIRALI: soprattutto nei bambini infezioni virali come il morbillo,

possono danneggiare il sistema immunitario soprattutto a livello dell'epitelio respiratorio RENDENDO PIÙ FACILE LA INVASIONE di altri patogeni.

- BRONCHITE CRONICA: si tratta di un fenomeno che si instaura soprattutto a seguito di danni continui e prolungati dell'apparato mucociliare soprattutto in associazione a fumo e simili; a lungo termine si assiste a:
 - incremento del NUMERO DELLE INFEZIONI
 - prolungamento DELLE INFEZIONI.
 - incremento della GRAVITÀ DELLE INFEZIONI.
- ASMA che porta a broncospasmi molto dannosi per le strutture bronchiali e bronchiolari.
- FIBROSI CISTICA¹: si tratta di una malattia genetica multifattoriale che si estrinseca in un incremento della attività ghiandolare e secretoria esocrina soprattutto di:
 - pancreas.
 - ghiandole associate alla cute.
 - ghiandole del tessuto polmonare.

soprattutto a livello POLMONARE LE SECREZIONI DIVENGONO ESTREMAMENTE DENSE e PROMUOVONO LE INFEZIONI generando un consistente ristagno di materiali; patogeni che approfittano di tale condizione sono spesso:

- stafilococcus aureus.
- pseudomonas aeruginosa.

l'incremento del numero di infezioni a livello polmonare è pericolosa soprattutto per cicatrici a lungo termine che inibiscono la funzionalità del tessuto.

- MALATTIA DI KARTAGENER: malattia genetica che porta ad alterazione della funzionalità ciliare.
- INTUBAZIONE: soprattutto in terapia intensiva risulta necessaria la intubazione del paziente a seguito di interventi chirurgici; in tali periodi di esposizione a patogeni il paziente viene posto:
 - in posizione di DECUBITO.
 - in INTUBATAZIONE.

Una tale condizione modifica inevitabilmente la meccanica respiratoria del paziente e incrementa il rischio di infezioni respiratorie in modo piuttosto notevole.

- INFEZIONI BATTERICHE.

MECCANISMI DIFENSIVI DELL'AREA OROFARINGEA:

A LIVELLO OROFARINGEO possiamo trovare numerosi sistemi di difesa contro l'invasione di patogeni:

- LA MUCOSA che se integra consente una difesa decisamente consistente, su questo filtro di difesa agiscono spesso STOMATITI DA MALA ALIMENTAZIONE.
- LA SALIVA che, essendo ricca di LISOZIMA, presenta una attività microbica molto elevata.

¹ Nel bambino affetto da FIBROSI CISTICA il MECONIO ASSUME UNA DENSITÀ ESTREMA che molto spesso porta a BLOCCO INTESTINALE anche mortale.

- LE COLONIE BATTERICHE CHE SI COLLOCANO NEL CAVO ORALE: nel cavo orale sono presenti numerosissimi microorganismi che competono tra loro:
 - per lo spazio.
 - per i nutrienti.

tale competizione rende MOLTO DIFFICILE L'IMPIANTO DI ALTRI FORME MICROBICHE. Questo è tanto vero che è proprio dal prevalere di una forma microbica sulle altre che NASCONO LE INFEZIONI DEL CAVO ORALE. Spesso questo tipo di patologie sono associate all'uso scorretto di farmaci: l'uso di un antibiotico per il cavo orale blocca e uccide le colonie batteriche, ma d'altro canto, eliminando concorrenti, stimola per esempio la crescita fungina.

FATTORI CHE POSSONO ABBASSARE LE DIFESE OROFARINGEE:

- disidratazione che provoca un calo di produzione di saliva.
- avitaminosi che provoca un calo della resistenza delle mucose

MECCANISMI DIFENSIVI DELL'APPARATO DIGERENTE:

L'apparato digerente è uno dei più soggetti a stress di natura virale e batterica e presenta numerosi e diversi meccanismi difensivi:

- ACIDITÀ GASTRICA: un microorganismo che penetra nel sistema digerente si trova ad affrontare un pH bassissimo, di circa 2. Questo sistema è tanto efficace che la SALMONELLA TYPHY sopravvive alla ingestione orale unicamente se il pH dello stomaco viene in qualche modo inibito².
- ACIDI E SALI BILIARI: si tratta di sostanze tossiche e pericolose per la maggior parte dei microorganismi potenzialmente patogeni.
- MICROORGANISMI SAPROFITI RESIDENTI: si collocano soprattutto nelle parti più profonde dell'intestino, analogamente a quanto avviene nel cavo orale si verificano fenomeni di COMPETIZIONE, sia per lo spazio che per i nutrienti.

FATTORI CHE POSSONO ABBASSARE LE DIFESE DELL'APPARATO DIGERENTE:

- rimozioni gastriche consistenti tanto da alterare la natura della mucosa gastrica.
- malattie epatiche e della colecisti che abbassano la quantità di BILE RIVERSATA NEL DUODENO.
- interventi chirurgici all'intestino che alterano la mobilità intestinale e la flora batterica.
- uso non controllato di antibiotici che tende ad eliminare le specie saprofite.

MECCANISMI DIFENSIVI DELLE VIE URINARIE:

la maggior parte delle infezioni di queste regioni avvengono per risalita in controcorrente dei microbi che si portano verso le parti più sensibili dell'apparato come vescica, ureteri e reni.

- IL FLUSSO DELLE URINE: si tratta della principale forma di difesa dell'epitelio e dell'apparato urogenitale che viene meccanicamente ripulito.
- COMPOSIZIONE DELLE URINE che contengono una grande quantità di COMPOSTI quali:

² questi esperimenti vennero condotti su internati nei campi di concentramento. Fino alla scoperta della esistenza di alcuni ceppi di Escherichia coli capaci di sopravvivere alla acidità gastrica e responsabili delle ULCERE GASTRICHE.

- UREA.
- ACIDI che abbassano il pH.
- COMPOSTI A POTERE OSMOTICO ELEVATO che incrementando l'osmolarità dell'ambiente rendono più difficoltosa l'invasione.

FATTORI CHE POSSONO ABBASSARE LE DIFESE DELL'APPARTO UROGENITALE:

- Spesso la semplice disidratazione è alla base di INFEZIONI DELLE VIE URINARIE in quanto provoca un netto calo del flusso.
- MALFORMAZIONE DELLE VIE URINARIE: spesso tali malformazioni generano un flusso non regolare che facilita l'insorgenza di infezioni, in particolare:
 - malformazioni congenite.
 - ipertrofia prostatica.
 - calcolosi renali.
 - compressione ab extrinseco.
- VESCICA NEUROLOGICA: che rende flusso uretrale e mobilità vescicale piuttosto ridotti.
- DEFICIT FUNZIONALI del sistema urogenitale in generale.
- MODIFICAZIONI DELLA COMPOSIZIONE URINARIA, tra queste ricordiamo che possono essere molto pericolose:
 - diminuzione della osmolarità dell'urina.
 - mancanza di acidificazione.
 - diminuzione della concentrazione di urea.
 - glicosuria.

spesso queste modificazioni sono associate a situazioni particolari quali possono essere:

- GRAVIDANZA: la presenza degli annessi placentari e del feto provoca:
 - ingombro fisico notevole.
 - alterazioni ormonali significative.
- L'INSUFFICIENZA RENALE che provoca alterazioni consistenti della composizione urinaria.
- IL DIABETE che porta ad eliminazione di glucosio con le urine che:
 - altera la osmolarità del liquido.
 - nutre i batteri che possono in questo modo proliferare.

LA INFEZIONE BATTERICA:

LA ADESIONE DEI BATTERI ALLA SUPERFICIE:

I MECCANISMI DI ADESIONE BATTERICI sono fondamentali per la capacità patogena del microorganismo e la loro attuazione è garantita da ADESINE compatibili con specifiche molecole che si collocano sulla mucosa. Molecole batteriche che contribuiscono a questa funzione sono:

- la capsula batterica.
- acido teicoico.
- le fimbrie.
- i flagelli.
- proteine della membrana esterna.
- proteine di superficie.

moltissime strutture insomma sono associate a questo tipo di funzione o

collaborano con essa.

LA PENETRAZIONE BATTERICA:

la penetrazione avviene per la presenza di condizioni favorevoli per il microorganismo che da un lato possono favorire la esposizione al patogeno, dall'altro possono essere legate ad un calo delle nostre difese immunitarie³. Il microorganismo, associatosi alla superficie dell'organismo che intende invadere, deve diffondere in profondità attraverso le cellule che costituiscono la mucosa cui è adeso, il microorganismo in linea generale si muove:

- per via DIRETTA attraverso le strutture dell'epitelio per:
 - portarsi in profondità.
 - superare la membrana basale.fatto questo il microorganismo può imboccare diverse vie.
- LA VIA LINFATICA che comunque si getta nella
- VIA EMATICA attraverso cui può raggiungere
- ALTRE VIE COME la via NERVOSA⁴.

I FATTORI DI DIFFUSIONE:

si tratta di fattori che i microorganismi devono produrre per poter diffondere per via diretta, in particolare ricordiamo:

- JALURONIDASI: enzima che depolimerizza l'acido jaluronico, componente fondamentale per la struttura del connettivo.
- PROTEINASI essenziali alla rottura dei desmosomi, giunzioni aderenti che rendono particolarmente compatto l'endotelio.
- COLLAGENASI essenziale al batterio per muoversi nel connettivo.
- NUCLEASI: questi composti sono fondamentali in quanto il pus è reso maggiormente denso dalla liberazione del DNA da parte dei neutrofili; il microbo riesce grazie alla presenza di questi enzimi a fluidificare il PUS e muoversi meglio.
- FOSFOLIPASI essenziali per la rottura di membrane cellulari.

Nel momento in cui il microbo abbia oltrepassato la membrana basale, ha compiuto un notevole passo avanti rispetto alla sua capacità patogenica.

LA VIA LINFATICA.

spesso la via linfatica viene imboccata da microorganismi che penetrano nel tessuto connettivo, si tratta infatti di una via preferenziale vista la pressione negativa che esercita sull'interstizio e vista la sua diretta apertura nell'interstizio. Lungo questa via si trovano numerose stazioni di controllo, i LINFONODI; nel momento in cui il microorganismo penetra nel linfonodo:

- si scatena uno scontro tra il sistema immunitario e il microbo.
- il microbo può essere:
 - ELIMINATO come avviene nella maggior parte delle volte.
 - SOPRAVVIVERE ALL'ATTACCO e quindi:
 - distruggere il LINFONODO⁵.

³ Durante i mesi invernali in particolare per diminuzione della vascolarizzazione periferica tutto è più facile.

⁴ Un tipico esempio è quello della infezioni erpetiche: si tratta di infezioni fasiche, durante le fasi SILENTI il virus si insedia nel GANGLIO TRIGEMINALE e permane in quella sede fino a quando non vi siano condizioni favorevoli alla sua proliferazione.

⁵ Un esempio tipico è LA PESTE BUBBONICA, a seguito della invasione del microbo, il linfonodo va incontro a un

- semplicemente passarvi attraverso giungendo ad altri tipi di tessuti o cellule.

LA VIA EMATICA:

i microbi giunti a livello del circolo ematico vengono veicolati a diversi organi del nostro corpo, in particolare:

1. la milza dove sono presenti numerose sinusoidi vascolari.
2. il fegato dove il sangue subisce numerosi processi di rielaborazione.
3. vasi sanguiferi centrali.

all'interno di questi organi IL MICROBO SI MOLTIPLICA E VIENE POI RIGETTATO NEL SANGUE DOVE RAGGIUNGE:

- TUTTO IL CORPO.
- L'ORGANO PER CUI È PREDISPOSTO a seconda dei tropismi che presenta.

LE DIFESE DELL'ORGANISMO UMANO E LA RISPOSTA DEL MICROORGANISMO:

LE DIFESE DEL CORPO UMANO:

il nostro organismo comincia a difendersi nel momento in cui il microorganismo oltrepassi la membrana basale, in particolare questa difesa si estrinseca tramite la produzione o attivazione di:

- anticorpi.
- cellule della immunità.
- proteine del complemento.
- fagociti.
- interferone.
- defensine.

Tutti questi sistemi si attivano unicamente nel caso in cui il CORPO PERCEPISCA L'INVASIONE.

LE DIFESE DEI MICROORGANISMI DALLA RISPOSTA IMMUNITARIA:

I microorganismi cercheranno in ogni modo di BYPASSARE sistemi di difesa che il corpo umano attiva, in particolare ricordiamo la presenza di alcuni fattori difensivi fondamentali come:

- LOCALIZZAZIONE IN SITI INACCESSIBILI ALLA DIFESA IMMUNITARIA:
 - HSV e VZV si insediano per esempio nei gangli nervosi e lì possono permanere per lungo tempo. Il virus cerca di ESPRIMERE SE STESSO uscendo dal ganglio, ma il sistema immunitario ne blocca la riemersione. Ricordiamo che:
 - l'herpes virus riemerge in condizioni di stress.
 - lo zoster può riemergere in situazioni diverse e piuttosto varie.
 - EBV o epstein barr virus: è il virus della mononucleosi, si colloca nei LINFOCITI CIRCOLANTI e, analogamente a quanto avviene per HSV e VZV può riemergere⁶.
 - IL PLASMODIUM MALARIE: si insedia negli EPATOCITI e NEI GLOBULI ROSSI dove non può essere individuato dal sistema immunitario. Alla sua riemersione il batterio presenta, ovviamente, capacità infettive notevoli.

processo di distruzione che si estrinseca nella formazione di BUBBONI.

⁶ il virus EBV è oncogeno, in particolare in condizioni di latitudine differenti dalle nostre.

Ricordiamo inoltre che un punto del nostro organismo può essere considerato inaccessibile al sistema immunitario nel momento in cui IL MICROORGANISMO TENGA UN PROFILO BASSO senza attivarlo quindi; in particolare ricordiamo:

- IL CITOMEGALOVIRUS⁷: questo virus non è aggressivo, permane in forma di INFEZIONE LATENTE:
 - nelle ghiandole salivari.
 - nei tubuli renali.
- RABDOVIRUS: si tratta di un virus molto aggressivo, tuttavia nei PIPISTRELLI permane in forma non patogena nelle ghiandole salivari.
- LEPTOSPIRA: si tratta di un batterio che entra in contatto con l'uomo tramite acque contaminate da urine di ratto; analogamente a quanto avviene per il rhabdovirus nel pipistrello, il ratto non è malato e ospita il microorganismo nel suo apparato urinario.
- LA SALMONELLA TYPHI: la salmonella si insedia generalmente, ma non sempre, nella cistifellea dove la sua replicazione:
 - GENERA UNA SERIE DI LESIONI.
 - LE LESIONI CICATRIZZANO e le aree DIVENGONO NON VASCOLARIZZATE.
 - LA SALMONELLA PERMANE NELLA SEDE COLECISTICA non vascolarizzata dove la risposta immunitaria risulta chiaramente diminuita.
- NEUTRALIZZAZIONE DI ANTICORPI PER MEZZO DI ANTIGENI SOLUBILI:
 - IL VIRUS DELL'EPATITE B: questo virus è capace di produrre enormi quantità di capsidi liberi, privi cioè di altre strutture, che RENDONO INEFFICACE IL SISTEMA DI DIFESA: gli anticorpi umani sono prodotti RISPETTO AL CAPSIDE VIRALE, se sono presenti numerosi capsidi vuoti, gli anticorpi li ATTACCHERANNO decrementando nettamente le capacità difensive del sistema anticorpale.
 - LA MENINGITE è spesso causata da patogeni quali:
 - streptococcus pneumoniae.
 - emophilus influenzae.
 - neisseria meningitidis.si tratta di microorganismi appartenenti a classi differenti, ma tutti presentano UNA CAPSULA ricca di polisaccaridi antigenici; QUESTI BATTERI RILASCIANO POLISACCARIDI ANTIGENICI LIBERI che SI LEGANO AGLI ANTICORPI NEUTRALIZZANDONE LA FUNZIONE.
- INTERFERENZE LOCALI CON IL SISTEMA IMMUNITARIO:
 - LO STAFFILOCOCCUS AUREUS produce enzimi quali:
 - LA COAGULASI che incrementa la coagulazione del sangue: lo stafilococco si associa alla fibrina, proteina della coagulazione; ovviamente il corpo non produce anticorpi contro la fibrina, di conseguenza il batterio sopravvive.
 - PROTEINA A: si tratta di una proteina che ha la capacità di legare gli

⁷ che infetta circa il 20% della popolazione di 20-22 anni e a 50 anni la frequenza arriva al 50-60%

anticorpi a livello della PORZIONE Fc INIBENDO LA RICEZIONE MACROFAGICA DELL'ANTICORPO STESSO e le sue capacità di attivazione.

- GONOCOCCHI E PNEUMOCOCCHI hanno la capacità di produrre PROTEASI che degradano le IgA. Le IgA sono anticorpi secretori che proteggono l'organismo da NUOVE INFEZIONI a livello delle MUCOSE, questo tipo di batterio:
 - viene catturato dalla IgA.
 - con le sue proteasi LE DEGRADA.
 - crea un'area della mucosa non protetta.
- PSEUDOMONAS AERUGINOSA: tale microorganismo presenta la capacità di produrre un enzima detto ELASTASI che degrada attivamente IgA, IgG e molecole del complemento come C3b.
- VARIAZIONI ANTIGENICHE: in particolare si tratta di un fenomeno che interessa la FEBBRE RICORRENTE, un patologia data dalla BORRELIA RICORRENTIS che:
 - penetra per la presenza di un vettore nell'organismo umano, si tratta di un pidocchio.
 - si moltiplica e genera la tipica sintomatologia:
 - febbri alte.
 - rigidità nucale.
 - il paziente MIGLIORA IN MODO CONSIDEREVOLE dopo circa una settimana anche senza l'utilizzo di medicinali.
 - il paziente RICOMINCIA A STARE MALE nello stesso modo a distanza di qualche giorno.

comincia un ciclo continuo di sintomi che migliorano fino alla guarigione per poi ripresentarsi in modo sempre piuttosto grave.

Tale fenomeno è legato al fatto che questo batterio CONTINUA A PRODURRE RICOMBINAZIONI GENICHE DEL SUO CROMOSOMA tali per cui alcune cellule batteriche, dopo aver stimolato il sistema immunitario a produrre anticorpi, mutano antigene di superficie, quindi:

- la maggior parte dei microorganismi presenti viene ELIMINATA dagli anticorpi prodotti, e questo genera il miglioramento nelle condizioni del paziente.
- una parte della popolazione cellulare batterica sopravvive all'attacco anticorpale e prolifera nuovamente.

Il ciclo in questione continua fino a che non vengono utilizzati antibiotici.

Un metodo simile viene utilizzato dal virus dell'EPATITE C: tale patologia cronicizza sistematicamente proprio per questa particolare abilità del microorganismo.

DIAGNOSI MICROBIOLOGICA

Si tratta di un processo che prevede numerose tappe e che comincia fondamentalmente dal sospetto diagnostico. Complessivamente in laboratorio è possibile fare una diagnosi microbiologica in due modi distinti:

- DIAGNOSI DIRETTA: dimostrazione dell'agente eziologico nel materiale patologico; fondamentalmente si indaga un campione e da questo emerge il microorganismo causa della malattia.
- DIAGNOSI INDIRETTA: dimostrazione della risposta immunitaria dell'ospite specificamente rivolta contro l'agente eziologico. Si dimostra insomma la presenza o assenza di una malattia, presente o pregressa, sulla base della presenza o assenza di anticorpi rivolti contro lo specifico agente patogeno. Questo tipo di approccio si può utilizzare per determinare se un individuo sia stato vaccinato o meno contro un dato antigene per esempio.

Una diagnosi microbiologica prevede fondamentalmente un iter di questo tipo:

- si ha un sospetto DIAGNOSTICO a livello clinico.
- Si esegue il prelievo di un campione.
- Si fa trasportare il campione in laboratorio.
- Si esegue una analisi microbiologica.
- Infine si ottiene un referto specifico.

IL SOSPETTO DIAGNOSTICO:

una indagine di tipo microbiologico deve essere richiesta sulla base di specifici problemi.

Inoltre è necessario precisare per un dato tipo di campione e sospetto diagnostico CHE TIPO DI RICERCA EFFETTUARE:

- infezioni di natura virale.
- infezioni di natura batterica:
 - aerobia.
 - anaerobia.

a seconda del tipo di sospetto si ESEGUONO PRELIEVI DIFFERENTI ED ANALISI DIVERSE.

ESEMPIO CLINICO:

A seguito di una operazione complessa di rimozione di ovaio, utero, tube, parte dell'intestino, peritoneo e un emidiaframma, la paziente presenta un versamento pleurico consistente. Il liquido viene RIMOSSO TRAMITE TORACENTESI quotidianamente. Si pensa si tratti di una reazione pleurica al reimpianto dell'emidiaframma,

a livello clinico si distinguono:

- trasudato legato alla semplice trasudazione di un tessuto sano.
- essudato che presenta invece natura patologica.

Nel caso specifico a seguito di analisi si arriva a determinare che si tratta di una infezione da pneumococco.

IL PRELIEVO:

Qualsiasi prelievo è di competenza medica. Il prelievo deve essere:

- **SIGNIFICATIVO** cioè indicativo di una INFEZIONE IN CORSO: per esempio se

un paziente ha una broncopolmonite si preleva un ESPETTORATO polmonare che deve provenire dalle parti più profonde del polmone, in caso contrario non è significativo.

È NECESSARIO quindi PRESTARE ATTENZIONE A:

- modalità del prelievo che deve essere eseguito in modo preciso.
- momento del prelievo: in particolare rispetto a fasi differenti di malattie batteriche che possono presentarsi alternativamente nel sangue o a livello delle mucose o nelle feci.
- conservazione del campione.
- trasporto del campione.
- il materiale deve essere BEN IDENTIFICATO: se il campione è stato prelevato da un certo paziente ci si aspetta una data popolazione batterica per esempio.

IL TAMPONE VAGINALE:

Se un tampone vaginale presenta una scarsità di batteri, che dovrebbero invece essere presenti in grande quantità, questo può essere legato:

- al fatto che la paziente è molto giovane, in età premestruale.
- Al fatto che la paziente, per motivi diversi, presenta una scarsità patologica di batteri.

IL TAMPONE FARINGEO:

il tampone faringeo va eseguito in modo molto preciso:

- si abbassa la lingua del paziente.
- si osserva il paziente in particolare rispetto alle tonsille o all'area coinvolta nel fenomeno infiammatorio.
- si esegue un prelievo specifico sulla zona infetta il più rappresentativo possibile.

IL CAMPIONE DELLE URINE:

- è necessario raccogliere il mitto intermedio ed escludere la parte iniziale.
- i genitali devono essere ben puliti prima della raccolta del campione.
- il contenitore deve essere sterile.

IL TRASPORTO DEL CAMPIONE:

Si tratta di una fase importante, sia rispetto al TEMPO che trascorre tra il prelievo e l'analisi, sia rispetto alle MODALITÀ di trasporto del campione stesso.

la BORDETELLA PERTUSSIS è un microorganismo estremamente fragile: nel caso in cui il microorganismo permanga anche per un tempo molto limitato in un ambiente ostile altera irrimediabilmente il campione uccidendo il microorganismo.

Normalmente in un campione di URINE sono presenti minime quantità di escherichia coli: se il campione permane in un ambiente caldo o favorevole alla moltiplicazione del microorganismo, questo si MOLTIPLICA fino a far assumere al campione carattere falsamente patologico.

LA DIAGNOSI MICROBIOLOGICA:

come accennato in precedenza possiamo distinguere una analisi di tipo DIRETTO e una di tipo INDIRETTO.

LA DIAGNOSI BATTERIOLOGIA DIRETTA IN LABORATORIO:

si tratta di un processo che avviene in due fasi distinte a livello didattico ma che di fatto rappresentano un unicum:

- ESAME MICROSCOPICO: tale esame dà delle indicazioni rapide e precise, in particolare ci consente di identificare:

- la presenza o meno di batteri.
- La quantità dei batteri presenti.
- La morfologia dei batteri.
- Le proprietà tintoriali dei batteri.
- La disposizione dei batteri nel campione.
- La presenza e natura delle cellule.
- La localizzazione dei batteri rispetto alle cellule presenti.
- L'eventuale effetto citopatico del virus.

ha una enorme rilevanza in quanto rapidamente consente di riconoscere caratteri fondamentali delle infezioni. Si esegue direttamente con il campione in arrivo, non sono necessarie colture e non ci sono tempi di attesa. Inoltre:

- microorganismi morti per esempio in seguito a problemi di trasporto, possono essere identificati tramite questo tipo di procedura.
- falsi positivi possono essere identificati rispetto alla presenza o assenza di leucociti nel campione.

Per quanto riguarda l'esecuzione di questo tipo di analisi **DISTINGUIAMO CASI DIFFERENTI**:

- risulta di **IMPORTANZA ASSOLUTA** in particolare:
 - per la **LEBBRA**: il *Micobacterium Leprae* non cresce in vitro di conseguenza è essenziale un controllo di tipo microscopico.
 - La associazione fuso spirocheta.
- Risulta di **IMPORTANZA ELEVATA**:
 - per la **TUBERCOLOSI**: il *micobacterium Tuberculosis* cresce a velocità molto basse, di conseguenza i tempi di attesa sono molto lunghi se si attende la coltura.

in casi come questi l'esecuzione dell'esame microscopico consente:

- di dare una risposta rapida alla clinica.
- Di scegliere il terreno più adeguato alla crescita del batterio.
- Inoltre consente, come accennato in precedenza, di controllare che il campione sia stato correttamente conservato e trasportato.
- Risulta infine di **IMPORTANZA SCARSA** soprattutto relativamente a dati materiali, come le **FECI**, dove la presenza di **UNA ENORME QUANTITÀ DI BATTERI RENDE DIFFICILE IDENTIFICARE UNA SINGOLA SPECIE**.

- **L'ESAME COLTURALE** che prevede:
 - isolamento della specie batterica.
 - identificazione della specie batterica.
 - eventuale antibiogramma.

È possibile oggi usufruire di tecniche di natura microbiologica e di genetica ricombinante, estremamente utili nella identificazione della specie batterica coinvolta per esempio.



L'ESAME COLTURALE:

si tratta di un esame piuttosto complesso che consente di identificare il microorganismo, incrementare la popolazione cellulare e studiarne la natura. Distinguiamo, come accennato in precedenza, diverse fasi.

ISOLAMENTO:

processo che consente di isolare le diverse colonie di diversi microorganismi presenti nel campione:

- coltivo in un dato terreno il campione.
- crescono più colonie di diversi microorganismi.
- utilizzo un ansa batteriologica e prelevo parte delle colonie e le isolo in terreni di coltura differenti.

IDENTIFICAZIONE DEL BATTERIO:

posso eseguire diversi tipi di procedure, in particolare distinguiamo:

- PROVE BIOCHIMICHE per cui è possibile determinare se un dato ceppo:
 - UTILIZZA UN CERTO SUBSTRATO OPPURE NO.

Per esempio la salmonella che si trova in un campione di feci, al contrario dell'escherichia coli, non è capace di UTILIZZARE IL LATTOSIO: una volta isolate delle colonie di salmonella, posso avere la certezza che siano di salmonella se in un mezzo ricco di lattosio questo non viene utilizzato.

- PRODUCE O MENO DATI ENZIMI: diversi batteri producono enzimi differenti.

Per esempio lo stafilococcus auerus produce COAGULASI e PROTEINA a; gli PNEUMOCOCCHI hanno la capacità di produrre PROTEASI che hanno potere degradante sulle IgA.

- PRODUZIONE DI DATI METABOLITI specifici per una specie batterica.

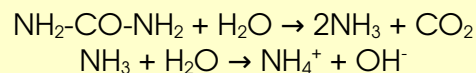
il coli produce INDOLO a partire dal TRIPTOFANO per esempio.

- PRODUCE AMBIENTI ACIDI O BASICI: determinati tipi di reazioni di natura biochimica sono identificabili direttamente alla osservazione del

campione; si possono utilizzare per esempio degli indicatori di tipo ACIDO BASE per determinare se vi sia o meno un batterio capace di produrre composti acidi o basici: l'utilizzo di questo tipo di metodo deve essere fatto con coscienza infatti:

- se in soluzione è presente una specie capace di mutare l'ambiente producendo acidi, la posso visualizzare tramite un indicatore.
- Se in soluzione sono presenti due specie, una delle quali non produce composti alteranti il campione, questa non viene visualizzata.

L'urea può essere degradata da UREASI che SCINDE L'AMMONIACA formando composti di natura BASICA:



in questo modo una specie batterica come l'*helicobacter pylori* risulta facilmente identificabile.

- PRODUCE SPECIFICI COMPOSTI CHIMICI che possono essere identificabili.

per esempio sappiamo che è presente in un campione solfato di ferro, il solfato di ferro reagisce con acido solfidrico, prodotto tipicamente dalle salmonelle, dando SOLFURO FERROSO di colore nero e facilmente visualizzabile.

- sensibilità A DATI ANTIBIOTICI.
- PROVE IMMUNOLOGICHE: si utilizzano sia nella diagnosi diretta che indiretta:
 - PROVE ANTIGENE ANTICORPO si possono utilizzare:
 - nella ANALISI DIRETTA dove viene espresso un antigene da un microbo, con un anticorpo anti antigene posso identificare il microorganismo.
 - nella ANALISI INDIRETTA dove è possibile utilizzare la presenza di anticorpi specifici per determinare quale sia il patogeno coinvolto.
 - Prove di questo tipo sono:
 - AGGLUTINAZIONE.
 - PRECIPITAZIONE.
 - IMMUNOFLUORESCENZA.
 - FISSAZIONE DEL COMPLEMENTO.
 - NEUTRALIZZAZIONE.
 - REAZIONI IMMUNOENZIMATICHE.
 - REAZIONI RADIOIMMUNOLOGICHE.
 - WESTERN BLOTTING.

API E I NUMERI OTTALI:

RISULTA IMPOSSIBILE, purtroppo, DETERMINARE QUALE SIA UN BATTERIO IN UN CAMPIONE CON UNA SOLA PROVA, È POSSIBILE SCEGLIERE E SCREMARE TRA I VARI TEST: eseguito un test, posso determinare quale strada seguire e quale test eseguire successivamente. Esiste da qualche anno la possibilità di organizzare in modo sistematico e molto rapido una serie di prove piuttosto complesse e leggerne i risultati in modo globale; tale sistema viene detto API o analytical profile index. Complessivamente si opera in questo modo:

- si preparano 20 cellette contenenti ciascuna quanto necessario ad eseguire una specifica prova, una ventunesima prova sarà eseguita a parte per motivi tecnici.

- in ogni celletta inserisco un campione batterico.
- controllo i risultati e li organizzo sulla base della teoria dei numeri ottavi: prendo cioè una serie di tre test e attribuisco:
 - al primo test un valore di 1 per positivo e 0 per negativo.
 - al secondo test un valore di 2 per positivo e 0 per negativo.
 - al terzo test un valore di 4 per positivo e 0 per negativo.

sommo i risultati delle triplette e ottengo un numero. Eseguendo la medesima procedura per tutte le provette organizzate in gruppi di tre, ottengo 7 numeri da 0 a 7: SI AFFIANCANO I RISULTATI DI TUTTE LE TRIPLETTE e si OTTIENE UN NUMERO A SETTE CIFRE, tale numero sarà IDENTIFICATIVO DI UNA DATA SPECIE BATTERICA in quanto in esso sono racchiuse MOLTE DELLE CARATTERISTICHE DEL BATTERIO.

La terza prova della settima tripletta è la prova della ossidasi e non è riproducibile in condizioni normali, quindi NON SI PUÒ ESEGUIRE CON LE ALTRE 20 PROVE, va eseguita separatamente.

LE TARGHE e la IDENTIFICAZIONE DEL BATTERIO:

La identificazione del batterio è un evento probabilistico, sappiamo infatti che una stessa specie può o meno presentare una data caratteristica, per esempio:

- il 95% dei coli produce INDULO.
- il 5% non lo produce.

A diversi numeri identificativi, possono corrispondere quindi batteri di una stessa specie, ma con caratteri fenotipici differenti.

UNA TARGA viene attribuita sulla base di un numero di combinazioni elevatissimo, nell'ordine delle centomila, inoltre la casa madre che si occupa di coordinare questo tipo di tecnologia è interfacciata costantemente con un enorme numero di laboratori che con i loro risultati contribuiscono a mantenere il database il più aggiornato possibile.

Esistono oggi sistemi automatizzati molto rapidi per l'esecuzione di test di questo tipo tramite i quali è possibile in 4 ore dare un verdetto definitivo; il sistema API eseguito manualmente richiede circa 24 ore per dare un verdetto.

L'ANTIBIOGRAMMA:

si tratta di una prova in vitro essenziale a testare la sensibilità di dati ceppi per dati antibiotici, la risposta è utile per determinare quale terapia sia utile contro infezioni di diverso tipo. L'esecuzione di questo tipo di esami è vincolata a batteri che si ritengono responsabili della malattia in esame: eseguita la identificazione delle specie presenti nel campione è quindi necessario determinare quale sia il microbo causa della patologia.

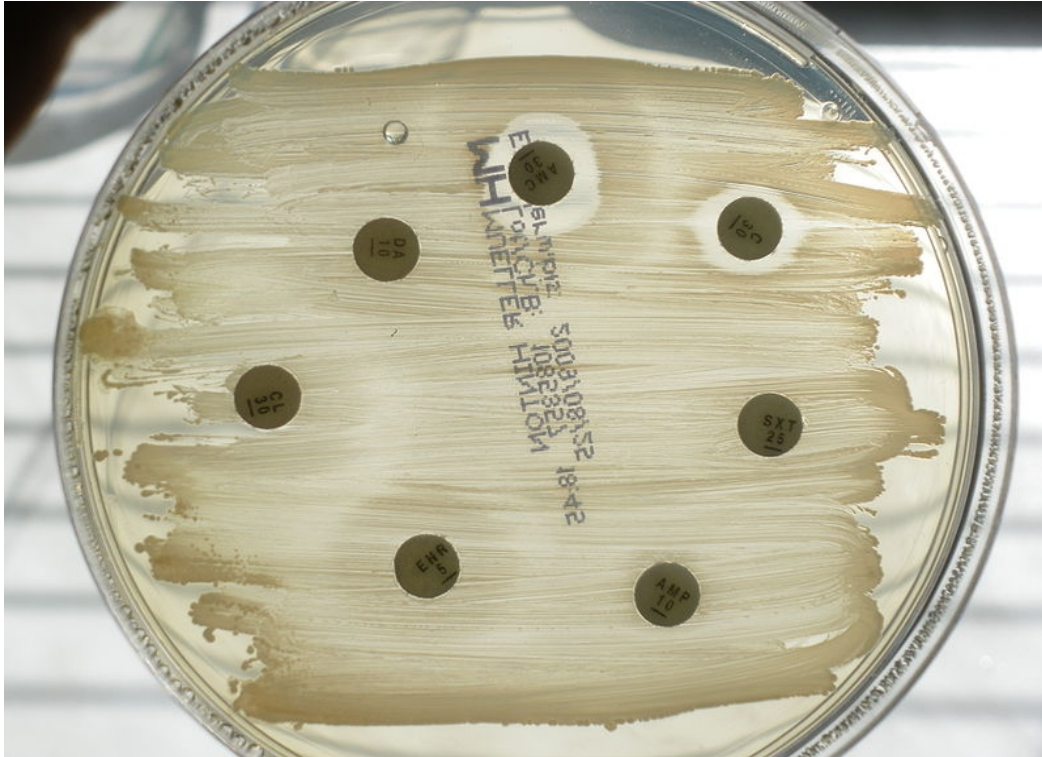
- PER MATERIALI FISIOLGICAMENTE STERILI: se si opera su un campione prelevato nel modo corretto e di una persona malata non gravemente, il campione è praticamente sterile, presenta unicamente la SPECIE PATOGENA.
- MATERIALI PRELEVATI DA MUCOSE: soprattutto nelle mucose esterne, come quella del cavo orale, sono RICCHE DI BATTERI, in questa situazione è più difficile determinare la causa della patologia.
- MATERIALI FECALI e ASCESSI sono altrettanto difficili da analizzare.

Esistono diversi metodi per valutare se una specie batterica sia sensibile o meno a

dati antibiotici; ricordiamo:

- diffusione in agar: si tratta del sistema più semplice ed utilizzato:
 - si prende una piastra.
 - si disseminano gli organismi su di essa.
 - sulla superficie seminata si pongono dei dischetti che contengono i diversi antibiotici.
 - l'antibiotico contenuto nel dischetto DIFFONDE sulla superficie umida del terreno e si viene a creare un gradiente di concentrazione del farmaco dal centro del disco verso la periferia.
 - se un farmaco funziona FUNZIONA ENTRO CERTE CONCENTRAZIONI:
 - intorno al disco, avremo un alone di NON CRESCITA.
 - lontano da disco, dove il gradiente di concentrazione non è presente, il batterio cresce.
 - A questo punto si valuta il diametro dell'alone:
 - se l'alone ha un diametro sufficientemente ampio, allora il batterio è da considerarsi antibiotico sensibile.
 - Se l'alone è assente o piccolo, allora il batterio sarà antibiotico resistente.
- diluizione in brodo:
 - si prepara un certo numero di provette.
 - si scioglie in una provetta una quantità di antibiotico di partenza di 1024mg/ml.
 - si inizia una diluizione uno a due ottenendo una serie di campioni di antibiotico sempre più diluiti (512mg/ml, 256mg/ml ecc...)
 - in ciascuna provetta si inserisce un campione batterico.
 - dopo 24 ore SI VALUTA L'INTORBIDIMENTO DEL CAMPIONE e SI STABILISCE QUALE SIA LA MIC o MINIMA CONCENTRAZIONE INIBENTE: se questa è abbastanza bassa, il batterio è sensibile all'antibiotico.
- diluizione in agar: si utilizza il medesimo sistema di diluizione in BRODO ma su PIASTRE.

si possono individuare degli antibiotici che creano degli aloni molto grossi, ma che all'interno degli aloni stessi non uccidono delle piccole colonie PREESISTENTI MUTANTI e FARMACORESISTENTI; tali colonie NON POSSONO ESSERE IGNORATE e non è possibile, ovviamente, utilizzare il farmaco in questione. Alla eventuale somministrazione di questo farmaco, chiaramente si avrà un iniziale miglioramento del paziente e quindi una ricaduta molto grave.



LA COLTIVAZIONE DEL CAMPIONE VIRALE:

Nella esecuzione di una operazione di questo tipo si utilizza spesso il metodo della INOCULAZIONE DI COLONIE CELLULARI COLTIVATE IN VITRO; tale operazione è essenziale per valutare la presenza o meno di un virus in un campione per esempio.

- SI PREPARA IL CAMPIONE CELLULARE:
 - si sminuzza un campione tissutale.
 - Si fanno moltiplicare le singole cellule presenti nello sminuzzato.
 - Si redisperdono le singole cellule di modo da incrementare il numero di colonie.
- SI PREPARA IL CAMPIONE VIRALE:
 - si esegue una centrifugazione a 3000rpm.
 - Il virus permane nel supernatante della centrifugazione e viene isolato spostandolo in una seconda provetta.
 - Si uniscono al campione antibiotici e antifungini di modo da eliminare quanto possa alterare il campione stesso.
- SI UNISCONO I DUE CAMPIONI:
 - si inserisce il materiale virale nella provetta contenente le cellule.
 - Si inserisce in un terreno adatto il campione.
 - Si lascia crescere.

A questo punto:

- se si sviluppa un monostrato cellulare ordinato e completo, allora o non è presente il virus o questo non ha capacità citopatica.
- Se il monostrato non si sviluppa ma anzi si individuano cellule sparse o

aggregati cellulari sparpagliati, allora è presente un virus con capacità citopatica.

LA DIAGNOSI BATTERIOLOGICA INDIRETTA IN LABORATORIO:

SI TRATTA DELLA RICERCA NEL SIERO DEL PAZIENTE DI ANTICORPI SPECIFICI PER ANTIGENI DELL'AGENTE EZIOLOGICO SOSPETTATO.

LA RIPOSTA IMMUNITARIA DEL PAZIENTE:

A seguito di una infezione il paziente comincia dopo pochi giorni a produrre anticorpi:

- inizialmente si producono IgM, molto utili a contrastare la infezione in un primo momento in quanto identificano molto bene l'antigene. Queste IgM diminuiscono nel tempo per essere sostituite da altri tipi di anticorpi.
- inizia la produzione di IgG: tali immunoglobuline vengono prodotte in modo molto più massiccio rispetto a quanto succedeva con le IgM.
- Le IgG calano con il tempo a seguito della infezione, ma permangono ad un certo livello, soprattutto grazie alla attività di cellule della memoria.
- ad una seconda invasione, LE CELLULE B rispondono con IgG in modo tanto ELEVATO DA RENDERE IMPOSSIBILE UNA SECONDA INFEZIONE.

Risulta quindi possibile determinare se vi sia o meno una infezione in corso:

- se sono presenti IgM l'infezione sarà appena cominciata.
- se sono presenti IgG posso determinare se vi sia una infezione in corso con una analisi prospettica detta TITOLO ANTICORPALE.

IL TITOLO ANTICORPALE è la massima diluizione del siero alla quale il prodotto della reazione è ancora visibile. in senso prospettico:

- si esegue un prelievo in un dato giorno.
- si esegue un secondo prelievo a distanza di alcuni giorni.

le concentrazioni di IgG coinvolte devono ESSERE IN NETTO AUMENTO se è presente una infezione e si parla in questo caso di SIEROCONVERSIONE.

PROVE IMMUNOLOGICHE UTILI NELLE ANALISI DIRETTE E INDIRETTE:

Prove immunologiche utili in questo tipo di analisi sono:

AGGLUTINAZIONE:

si tratta di una reazione antigene-anticorpo nella quale l'antigene è corpuscolato, non solubile, come una cellula per esempio. Questa tecnica è utile per esempio:

- NELLA DIAGNOSI DIRETTA: si tratta di una reazione che consente di identificare per esempio diverse specie batteriche sulla base dell'antigene che esprimono. L'operazione si esegue in questo modo:
 - si prende un vetrino e si striscia il campione.
 - Si inserisce un anticorpo contro la salmonella tiphy per esempio.
 - gli anticorpi fanno da ponte tra cellula e cellula FORMANDO UN AGGLUTINATO che risulta visibile ad occhio nudo come una piccola zolla compatta.

Se il batterio non è compatibile con l'anticorpo utilizzato, semplicemente non succede nulla.

- NELLA DIAGNOSI INDIRETTA:
 - si preparano delle provette distinte.
 - in ogni provetta si inserisce 1ml di soluzione fisiologica.

- Si preleva il siero del soggetto.
- si inserisce un millilitro di siero del paziente in una provetta ottenendo una diluizione 1 a 2.
- si trasferisce un millilitro del campione diluito in una seconda provetta ottenendo una diluizione 1 a 4.
- si procede in questo modo in una diluizione a fattore 2.
- giungo ad una diluizione per esempio di 1 a 1024.

Si inserisce a questo punto l'agente patogeno sospettato nelle provette; se il campione è positivo, sono presenti ANTICORPI che AGGLUTINANO L'AGENTE IN QUESTIONE: a questo punto si valuta la DIVERSA REAZIONE DEI DIVERSI CAMPIONI e si osserva che giunto ad un certo livello di diluizione, la agglutinazione non avviene più in quanto gli anticorpi sono troppo diluiti per eseguire tale operazione.

SI DEFINISCE TITOLO ANTICORPALE L'ULTIMO CAMPIONE A LIVELLO DEL QUALE SI OSSERVA IL FENOMENO DI AGGLUTINAZIONE.

Questa tecnica si può eseguire anche per la diagnosi DI UNA MALATTIA IN ATTO dove si osserva UNA VARIAZIONE DEL TITOLO ANTICORPALE NEL TEMPO (sieroconversione) che aumenta in caso di infezione in corso.

Questo tipo di analisi non consente però di distinguere tra IgM E IgG.

PRECIPITAZIONE:

si tratta di una reazione antigene-anticorpo in cui l'antigene è solubile, non corpuscolato, come una tossina per esempio. È una prova difficilmente quantificabile e qualificabile in quanto si ottiene un semplice precipitato.

È possibile trasformare un test di questo tipo da una PRECIPITAZIONE ad una AGGLUTINAZIONE, per esempio MONTANDO L'ANTIGENE SOLUBILE O L'ANTICORPO SU UNA BASE SOLIDA, generalmente:

- un globulo rosso.
- Un supporto in lattice.

Tale operazione si può eseguire sia su anticorpi che su antigeni solubili.

Per sapere per esempio se un individuo è vaccinato contro il tetano si prova a corpuscolare la tossina:

- si monta la tossina tetanica su una struttura cellulare, per esempio un globulo rosso ma anche altre cose.
- Si inseriscono anticorpi di derivazione sierica del paziente.
- se sono presenti anticorpi agglutineranno rispetto alla tossina.

Analogamente a quanto accennato in precedenza, è possibile anche eseguire un titolo ANTICORPALE su questo tipo di reazione valutando a differenti concentrazioni di anticorpo la diversa agglutinazione.

Un esempio di diagnosi diretta potrebbe essere questo: i batteri capaci di dare una MENINGITE sono tre, tutti presentano una capsula esterna, tale capsula viene esocitata dal batterio per generare una risposta immunitaria contro un agente inerte, di conseguenza È POSSIBILE CERCARE NEL LIQUOR DEL PAZIENTE I POLISACCARIDI CARATTERISTICI DELLA CAPSULA IN QUESTIONE. La capsula, naturalmente, è composta di polisaccaridi solubili, non corpuscolabili; ma è possibile agire in questo modo:

- si utilizza una base solida, un globulo rosso o una placca di lattice.
- si montano gli anticorpi contro il polisaccaride capsulare.

- Si valuta la reazione anticorpale.

È possibile per esclusione giungere ad identificare il batterio in questione.

LA NEUTRALIZZAZIONE:

Si tratta di un sistema che consente di identificare la presenza di uno specifico virus in un campione tramite l'utilizzo di anticorpi contro il virus stesso o per determinare la presenza di una tossina. Analogamente a molte altre tecniche, è utilizzabile sia nella analisi diretta che nella analisi indiretta.

NELLA ANALISI DIRETTA:

normalmente una infezione virale viene bloccata grazie alla presenza di:

- anticorpi che bloccano la funzionalità del virus e la sua capacità di aderire a cellule dell'organismo.
- cellule immunitarie che uccidono le cellule infette impedendo una ulteriore propagazione.

Noto questo tipo comportamento del nostro sistema immunitario, possiamo utilizzare gli anticorpi prodotti per valutare la presenza o assenza di un dato virus in un campione sierico o determinare, ove vi siano dubbi, quale virus sia responsabile di una data patologia. Sostanzialmente la procedura è la seguente: si preparano diversi campioni contenenti il campione virale prelevato dal paziente e li si fa reagire con differenti anticorpi, dove il virus verrà reso inefficace, allora avremo la corretta combinazione antigene-anticorpo.

I virus capaci di dare una infezione ad afte e vescicole a livello del cavo orale sono tre:

- adenovirus.
- Herpes virus.
- Coxsackie virus.

tutti questi virus hanno capacità citopatica, possono cioè uccidere cellule del nostro organismo per riprodursi. Prelevato un campione è possibile distinguere di quale virus si tratti utilizzando una reazione di neutralizzazione:

- si prendono tre provette e si inserisce in ciascuna un campione virale.
- Nelle tre provette preparate si inseriscono, uno per ciascuna provetta, gli anticorpi adatti a neutralizzare i tre virus.
- si lascia agire l'anticorpo.
- si inseriscono i tre campioni in tre colture cellulari:
 - una permarrà integra.
 - due verranno distrutte.

nel campione dove sono abbinati virus e anticorpi compatibili, il virus viene BLOCCATO e non è capace di provocare danni.

si tratta di una reazione di NEUTRALIZZAZIONE rispetto alla analisi diretta. Lo stesso tipo di controllo si può eseguire con tossine batteriche e si utilizza in questo caso un animale: si inoculano nell'animale la tossina ignota prelevata dal paziente e uno degli anticorpi potenzialmente compatibili.

- Se l'animale muore, la tossina è ancora efficace e l'anticorpo non ha avuto effetto.
- Se l'animale vive, la tossina è stata neutralizzata e l'anticorpo era compatibile con la tossina stessa.

NELLA ANALISI INDIRETTA:

anche in questo caso si esegue, analogamente ad altri tipi di test:

- la raccolta di un campione.
- La diluizione a scalare su base 2 del siero.

in ciascun campione si inserisce il virus sotto esame; si prelevano i campioni e si inseriscono su diverse colture cellulari: si valuta il TITOLO ANTICORPALE sulla base dell'ultimo campione che non presenta effetto citopatico.

LA FISSAZIONE DEL COMPLEMENTO:

il complemento è una batteria di sostanze proteiche che si lega, almeno per questo tipo di analisi, unicamente al complesso antigene anticorpo o complesso immune: questo complesso proteico ha, per quanto riguarda il suo ultimo effettore, capacità litica rispetto all'antigene batterico. Tale complesso proteico è TERMOLABILE, a 56°C scompare dal campione.

NELLA ANALISI DIRETTA:

È possibile utilizzare questo tipo di processo per determinare quale sia il virus contenuto in un campione: analogamente al caso precedente possiamo mettere in evidenza LA FORMAZIONE DI COMPLESSI IMMUNI formati dall'abbinamento tra ANTIGENE ED ANTICORPO. Si procede generalmente in questo modo:

- si preparano diversi campioni del virus.
- Si inseriscono, come visto in precedenza, i diversi anticorpi: dove l'abbinamento sarà corretto, avremo la formazione di immunocomplessi.
- Si aggiunge al preparato del complemento che andrà chiaramente a legarsi al complesso immune ove presente.
- A ciascun campione viene aggiunto un complesso antigene anticorpo che, se associato al complemento, risulti visibile per esempio per lisi della cellula che espone l'antigene inserito: nei campioni dove si sviluppa la reazione litica chiaramente era presente del complemento libero, cioè non associato a complessi antigene anticorpo già presenti.

In questo modo posso identificare in quale delle provette sia presente il complesso antigene anticorpo virale.

Per esempio, analogamente a quanto detto in precedenza, una sindrome vescicolare del cavo orale può essere causata da:

- adenovirus.
- Herpesvirus.
- Coxsackie virus.

anche in questo caso prepariamo quindi tre campioni, uno per ciascun virus e vi inseriamo gli anticorpi relativi:

- IN UNO DEI CAMPIONI SI FORMERÀ IL COMPLESSO IMMUNE al quale IL COMPLEMENTO POTRÀ ASSOCIARSI.
- Inserisco quindi il complemento in tutti i campioni:
 - in una delle provette avremo una reazione.
 - nelle altre provette non avremo reazioni.In ogni caso questo tipo di reazione non sarebbe visibile se non a livello molecolare.
- INSERISCO IN TUTTI I CAMPIONI UN COMPLESSO ANTIGENE ANTICORPO per esempio costituito da un globulo rosso e suoi anticorpi SENSIBILE AL LEGAME DEL COMPLEMENTO e visibile a seguito per esempio della sua lisi:
 - NELLA PROVETTA DOVE IL COMPLEMENTO È IMPEGNATO, NON SUCCEDERÀ NULLA.
 - NELLE PROVETTE DOVE IL COMPLEMENTO NON È IMPEGNATO, ASSISTEREMO AD UN FENOMENO LITICO e alla LIBERAZIONE DI COMPONENTI RICONOSCIBILI E VISIBILI.

A questo punto nella provetta dove non è successo nulla avremo chiaramente la

combinazione virus-anticorpo corretta e potremo quindi identificare il virus patogeno.

NELLA ANALISI INDIRETTA:

È possibile individuare, tramite questo tipo di analisi, la presenza di anticorpi contro una data patologia: una volta purificato il campione dalla presenza di proteine del complemento (portandolo cioè a 56°C) è sufficiente eseguire una diluizione a fattore 2 e valutare fino a che concentrazione si formano dei complessi antigene anticorpo capaci di associarsi al complemento. Fintanto che saranno presenti sufficienti quantità di complessi antigene-anticorpo da impegnare il complemento, alla inserzione nel campione di un secondo complesso antigene-anticorpo non vi sarà reazione.

Una volta prelevato il campione di un individuo per il quale sia necessario valutare la presenza di anticorpi contro il virus della varicella, si esegue la purificazione a 56°C. A questo punto:

- aggiungo in ogni provetta il virus della varicella.
- se il paziente presenta anticorpi, allora si formerà il complesso immune.
- si aggiungono quantità precisissime di complemento, avverrà in presenza di anticorpi una reazione che, come nel caso precedente, non sarà visibile.
- si inserisce un complesso analogo a quello precedentemente descritto (cioè capace di reagire in modo visibile al legame con il complemento) e si osserva quanto avviene:
 - per le prime provette non si assiste a nessuna reazione in quanto il complesso immune intrappola il complemento e inibisce ulteriori reazioni.
 - giunti ad una certa diluizione gli anticorpi sono diluiti a tal punto da non poter formare complessi immuni e di conseguenza IL COMPLEMENTO SI ASSOCERÀ AL COMPLESSO NEOINSERITO.

GLI ANTICORPI SOLUBILI MARCATI:

È possibile utilizzare degli anticorpi prodotti da un organismo e marcati per la identificazione univoca di un patogeno. Ricordiamo inoltre che LE CATENE PESANTI DELLE IMMUNOGLOBULINE sono DIFFERENTI DA CLASSE A CLASSE; possiamo immunizzare due animali differenti rispetto a due CATENE PESANTI DIFFERENTI RENDENDO QUINDI POSSIBILE LA DISCRIMINAZIONE TRA IgG E IgM.

NELLA ANALISI DIRETTA:

È possibile oggi marcare gli anticorpi semplicemente associando al loro frammento Fc qualcosa di identificabile, per esempio della FLORESCEINA, una sostanza che se viene eccitata da una radiazione emessa nell'ambito ultravioletto, restituisce una radiazione visibile.

Se per esempio si dovessero avere dei dubbi relativamente ad un campione patologico fra tre virus, si potrebbe eseguire una operazione di questo tipo:

- preparo tre vetrini e vi distribuisco tre campioni fissandoli molto bene.
- inserisco in ciascun campione preparato un anticorpo specifico fluoresceinato.
- lavo i campioni, a questo punto:
 - gli anticorpi che non trovano il loro substrato, non si fissano al campione e vengono portati via.
 - gli anticorpi che trovano il loro substrato si fissano e permangono sul vetrino.
- si osservano quindi i tre campioni al microscopio a fluorescenza e si

determina quale delle tre specie sia coinvolta nella infezione.

si tratta di una procedura MOLTO COSTOSA e non si esegue quasi mai, nella realtà laboratoristica, infatti, si cerca di utilizzare un metodo lievemente diverso:

- si inseriscono degli anticorpi MA NON FLUORESCENTATI nei campioni preparati in modo analogo al caso precedente.
- si lavano i campioni come in precedenza.
- si inseriscono degli anticorpi anti anticorpo FLUORESCENTATI nei tre campioni.
- si lascia agire e si lavano i campioni; come in precedenza:
 - l'anticorpo che ha trovato il suo substrato permane in loco.
 - l'anticorpo che non trova il suo substrato viene lavato via.

È facile in questo modo identificare il campione che presenta anticorpi attivi.

A livello di costo questa tecnica è molto vantaggiosa, in particolare:

- consente di conservare un unico anticorpo fluoresceinato in laboratorio.
- La fluorescina decade nel tempo, di conseguenza una fluoresceinazione di anticorpi per malattie rare sarebbe futile.

NELLA ANALISI INDIRETTA:

è possibile identificare la presenza di anticorpi in un campione in questo modo:

- si acquistano dei vetrini modificati di modo da poter ospitare dei pozzetti disposti in due file da cinque e sul fondo di ciascuno di essi si pone il patogeno specifico.
- si aggiunge il siero del paziente diluito in modo sempre più consistente nei diversi pozzetti.
- a questo punto è possibile analizzare la presenza nel campione di IgG o IgM per quel dato antigene:

- in una serie di pozzetti inserisco anticorpi anti IgG.
- Nella seconda serie di pozzetti inserisco anticorpi anti IgM.

se il paziente è negativo in entrambe le file, allora non è infetto né lo è stato; in caso contrario:

- se positivo per le IgG gli anticorpi sono formati e l'infezione è quasi certamente debellata.
- se positivo per le IgM l'infezione è in corso ed è necessario agire.

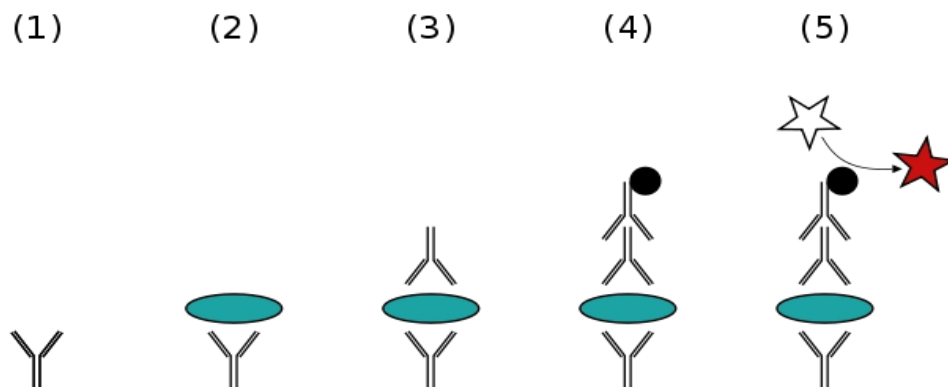
questo tipo di prova si utilizza soprattutto per PATOLOGIE PERICOLOSE DURANTE LA GRAVIDANZA: è possibile infatti determinare con certezza se una infezione pericolosa sia in atto o sia trascorsa o non sia mai avvenuta.

ALTERNATIVAMENTE ALLA FLORESCINA, piuttosto costosa, si possono UTILIZZARE ALTRI METODI PER MARCARE GLI ANTICORPI, per esempio:

- ELISA enzyme linked immunosolvent assay.
- EIA enzyme immuno assay.
- RIA radioimmunoassay.
- MOLECOLE ENZIMATICHE: i metodi precedentemente descritti prevedono la marcatura diretta dell'anticorpo, è possibile anche marcare l'anticorpo con una molecola enzimatica la cui azione produca un risultato visibile: se l'anticorpo trova il suo antigene e permane in loco anche a seguito di lavaggi, è possibile individuarlo inserendo il substrato della molecola

enzimatica ad esso associata e valutando la reazione.

Illustrazione schematica ELISA:



Ricerca dell'antigene specifico:

Questo tipo di tecnica si può utilizzare per esempio per un paziente che, essendo stato esposto ad un dato virus o batterio, vuole sapere se è stato infettato. Un caso tipico è il virus dell'epatite B:

si prepara un pozzetto che presenta al suo fondo un anticorpo compatibile con l'agente ricercato, in questo caso HBsAg e si inserisce il siero del paziente:

- se il paziente è positivo, l'antigene viene catturato.
- se il paziente è negativo l'antigene non è presente e non si lega all'anticorpo presente nel pozzetto.

Si inserisce a questo punto un ANTICORPO ANTIANTIGENE che presenta UNA MOLECOLA ENZIMATICA A LIVELLO DEL FRAMMENTO Fc: si lava il campione e si inserisce il SUBSTRATO DELL'ENZIMA. a questo punto:

- se è presente l'antigene HBsAg allora si ha una reazione enzimatica.
- Nel caso in cui l'antigene non sia presente, la reazione non avviene.

Questa analisi SI ESEGUE soprattutto PER l'HBV, virus dell'epatite B, a seguito di contatto; tale virus infatti può causare nell'adulto:

- epatite fulminante che richiede necessariamente il trapianto e che si verifica circa nel 5% dei casi.
- epatite cronica, poco frequente nell'adulto (10% dei contagiati) ma molto nel bambino (90%) che nasce da una donna affetta da HBV, che genera una serie di danni continui alla struttura epatica.

Ricerca dell'anticorpo specifico:

- sul fondo del pozzetto si deposita l'antigene HBsAg.
- si inserisce il siero del paziente nel pozzetto:
 - se sono presenti anticorpi si legano e al lavaggio restano fissati al campione.
 - se non sono presenti, non si lega nulla.
- ANALOGAMENTE al caso precedente si INSERISCE UN ANTICORPO ANTI ANTICORPO associato ad un enzima.

Tramite l'utilizzo di due pozzetti identici è possibile distinguere tra IgM e IgG semplicemente inserendo anti anticorpi specifici per le due catene pesanti.

Per quanto riguarda l'HBV la presenza di immunoglobuline specifiche contro l'HBsAg è la prova del fatto che l'organismo sta reagendo al virus e che la infezione è stata debellata.

A livello statistico ricordiamo due concetti fondamentali per quanto riguarda l'affidabilità di un test:

- LA SENSIBILITÀ cioè la probabilità che un test sia positivo condizionata al fatto che la persona sia malata. Si tratta della probabilità che una persona malata presenti test positivo (probabilità che avendo un tumore maligno la donna risulti positiva all'ecografia).
- LA SPECIFICITÀ cioè la probabilità che un test sia negativo condizionata al fatto che la persona sia sana. Si tratta della probabilità che una persona sana presenti test negativo (probabilità che essendo sana la donna risulti negativa all'ecografia).

Chiaramente il medesimo concetto si può applicare a SINTOMI piuttosto che a test di laboratorio.

Nella pratica clinica si preferisce utilizzare prima test ad alta sensibilità valutando come secondaria la specificità, in questo modo:

- se la persona è veramente affetta da quel patogeno, è quasi certo che risulti positiva.
- Se la persona non è affetta da quel patogeno, allora è possibile che il test risulti comunque positivo.

A livello CLINICO è molto meno pericoloso, anche se comunque spiacevole, dare dei risultati falsi positivi in quanto si evita la propagazione di infezioni pericolose. In ogni caso, soprattutto per l'HIV, tutti i risultati devono essere verificati con test ad elevata sensibilità.

LA SCELTA TRA QUESTO DUE TECNICHE è legata ai VANTAGGI e SVANTAGGI di ciascuna:

- il sistema della immunofluorescenza è manuale mentre il sistema enzimatico può essere automatizzato.
- Il sistema ENZIMATICO è estremamente SENSIBILE MA POCO SPECIFICO: sbaglia in eccesso.

IL WESTERN BLOTTING:

si tratta di una tecnica diagnostica utile INDIRETTA, per esempio, rispetto al virus dell'HIV:

- si prende un virus.
- si lisa il virus e si isolano le sue proteine.
- si trasferiscono le proteine virali su una banda di cellulosa.
- se il virus è presente nel siero del paziente, allora saranno presenti anche gli anticorpi ad esso compatibili: associando gli anticorpi alle proteine virali posso visualizzarne la eventuale presenza.
- utilizzo un anticorpo anti anticorpo marcato:
 - con fluorescina.
 - con enzimi generalmente.

E posso determinare se sia o meno presente l'anticorpo nel siero del paziente.

LA SCELTA DEL TEST:

La scelta del test da eseguire è associata a numerosi fattori differenti, tutti molto importanti:

- Un laboratorio di grandi dimensioni presenta ovviamente la possibilità di automatizzare i sistemi di analisi con investimenti economici consistenti; un laboratorio piccolo non dispone di questo tipo di macchinari.
- Il costo delle operazioni è molto alto; molto spesso bisogna essere ragionevoli da questo punto di vista.
- LA SENSIBILITÀ e SPECIFICITÀ DI UN SISTEMA.

- Se per esempio si deve fare un test per l'HIV è logicamente meglio utilizzare un metodo altamente sensibile che possa garantire l'identificazione di tutti i pazienti realmente positivi; tali metodi vanno ovviamente poi rivalutati con test ad alta specificità.

METODI DI DIAGNOSI RAPIDA:

si tratta di sistemi non tradizionali, molto spesso molecolari, MOLTO RAPIDI E CHE A VOLTE CONSENTONO DI DARE RISULTATI PIÙ ACCURATI: un esempio tipico è la ricerca delle capsule batteriche nella meningite.

LA TIPIZZAZIONE:

Negli ultimi anni si sono sviluppati ceppi di pseudomonas resistenti a molti farmaci che venivano debellati tramite l'uso di IMIPENEM (TIENAMICINA); con il tempo si svilupparono alcuni ceppi resistenti. Ad una attenta osservazione venne trovato in un altro batterio capace di sintetizzare un enzima, in grado di rompere la struttura molecolare del farmaco, detto metallo beta lattamasi. Il medesimo enzima venne ritrovato anche nello pseudomonas e il gene codificante per tale molecola viene detto VIM.

Questo tipo di fenomeni sono molto favoriti dalle pratiche di DAY HOSPITAL: l'ingresso ed uscita delle persone dall'ospedale e lo scambio dei pazienti nei reparti porta ad un notevole incremento della diffusione dei ceppi resistenti.

è possibile TIPIZZARE i differenti ceppi per determinare se per esempio in un ospedale l'infezione di più reparti sia legata ad un solo ceppo batterico resistente o a diverse mutazioni casuali:

- si preleva il genoma di diversi batteri provenienti da diverse colonie.
- si utilizzano enzimi di restrizione che fanno dei tagli sulla sequenza genomica ricavata.
- Si eseguono delle elettroforesi su gel dei differenti genomi.
- si confrontano i risultati e si valuta se siano simili o differenti.

A seconda delle differenze a livello di patrimoni genetici sarà possibile determinare se i microorganismi siano o meno del medesimo ceppo.

SIERI E VACCINI:

Possiamo distinguere:

- SIERO: inoculazione di anticorpi. si utilizza contro le tossine per esempio: si tratta dell'unico modo per difendere un organismo dalle tossine batteriche e impedisce alla tossina stessa di trovare il suo target e consente all'organismo di eliminarla lentamente.
- VACCINO: sensibilizzazione al patogeno. Fondamentalmente stimolano la reazione del sistema immunitario. Distinguiamo due tipologie di vaccini principalmente:
 - MORTI dove viene inoculato il microorganismo morto.
 - VIVI ATTENUATI dove viene inoculato il microorganismo alterato o modificato di modo che non sia pericoloso.

IL VACCINO PER LA POLIOMELITE:

per la poliomelite abbiamo due vaccini:

- SALK: vaccino morto.
- SABIN: vaccino vivo attenuato.



La poliomelite è una malattia grave praticamente debellata, esistono unicamente alcune sacche in tutto il mondo dove questa patologia è ancora presente.

Tale malattia:

- si acquisisce per via alimentare.
- Da, nella gran parte dei casi, UNA GASTROENTERITE.
- il virus è NEUROTROPICO e PUÒ PROVOCARE DANNI GRAVISSIMI A LIVELLO DEL SISTEMA NERVOSO CENTRALE.

IL VACCINO SABIN:

Sabin fondamentalmente è un virus modificato per non avere PIÙ TROPISMO PER IL SISTEMA NERVOSO. Un virus mutato in questo modo:

- si ottiene bloccando proteine di superficie del virus a livello molecolare oggi.
- Si ottiene COLTIVANDO E CERCANDO DEI CEPPI VIRALI MUTANTI, così fece Sabin per costruire un vaccino del genere in quanto all'epoca non erano disponibili tecnologie ricombinanti.

È importante sottolineare il fatto che il solo SALK non sarebbe stato sufficiente a debellare la poliomelite, a livello immunitario infatti:

- dal punto di vista della immunizzazione il vaccino sabin simula in modo molto migliore il sistema immunitario.
- Salk inoltre è scomodo in quanto deve essere somministrato via intramuscolo o parenterale.

Oggi nel nostro paese, dove la poliomelite è fondamentalmente debellata, non si utilizza molto il vaccino SABIN in quanto si teme che UNA RETROMUTAZIONE possa far recuperare a questo virus il SUO NATURALE TROPISMO PER IL SISTEMA NERVOSO CENTRALE¹.

LA SETTICEMIA:

definiamo SETTICEMIA la presenza e moltiplicazione di batteri nel sangue; per determinare se un paziente presenti un setticemia e quale specie ne sia eventualmente la causa, si esegue una EMOCULTURA, si tratta di un esame piuttosto particolare:

- si esegue un prelievo inoculo; tale procedura si esegue utilizzando delle boccette così costituite:
 - nella boccetta sono presenti 100ml di terreno di coltura.
 - le boccette presentano al loro interno una pressione negativa.
 - la boccetta è associata ad un ago che la collega ad un tubo all'apice del quale si trova un secondo ago aspirante.
- il sangue viene aspirato direttamente in tali boccette in quantità di 10ml. in questo modo possiamo prelevare e mettere in coltura una grande quantità di liquido, 100 volte quanto potremmo coltivarne in una piastra.

Il campione può essere valutato semplicemente sulla base della sua torbidità, ma oggi si utilizzano metodi differenti: sappiamo che se è presente un microbo nel campione, messo in coltura attiverà il suo metabolismo e produrrà anidride carbonica; l'incremento di CO₂ viene misurato con diversi metodi:

- una possibilità è quella di confrontare la pressione di CO₂ del campione in coltura con quella di un campione puro.

¹ Tutti gli ultimi casi di rosolia in Italia si sono verificati proprio per retromutazione del virus.

- in alternativa si può utilizzare il metodo BATEC: si utilizza una sostanza che reagisce con l'anidride carbonica quando questa sia presente nel campione; questa sostanza:
 - se associata alla CO₂ e stimolata da una radiazione luminosa, dà una data risposta.
 - se non associata alla CO₂, dà una risposta differente.

se il prelievo risulta positivo, si esegue una coltura su piastra di agarosio.

02-BATTERIOLOGIA SPECIALE

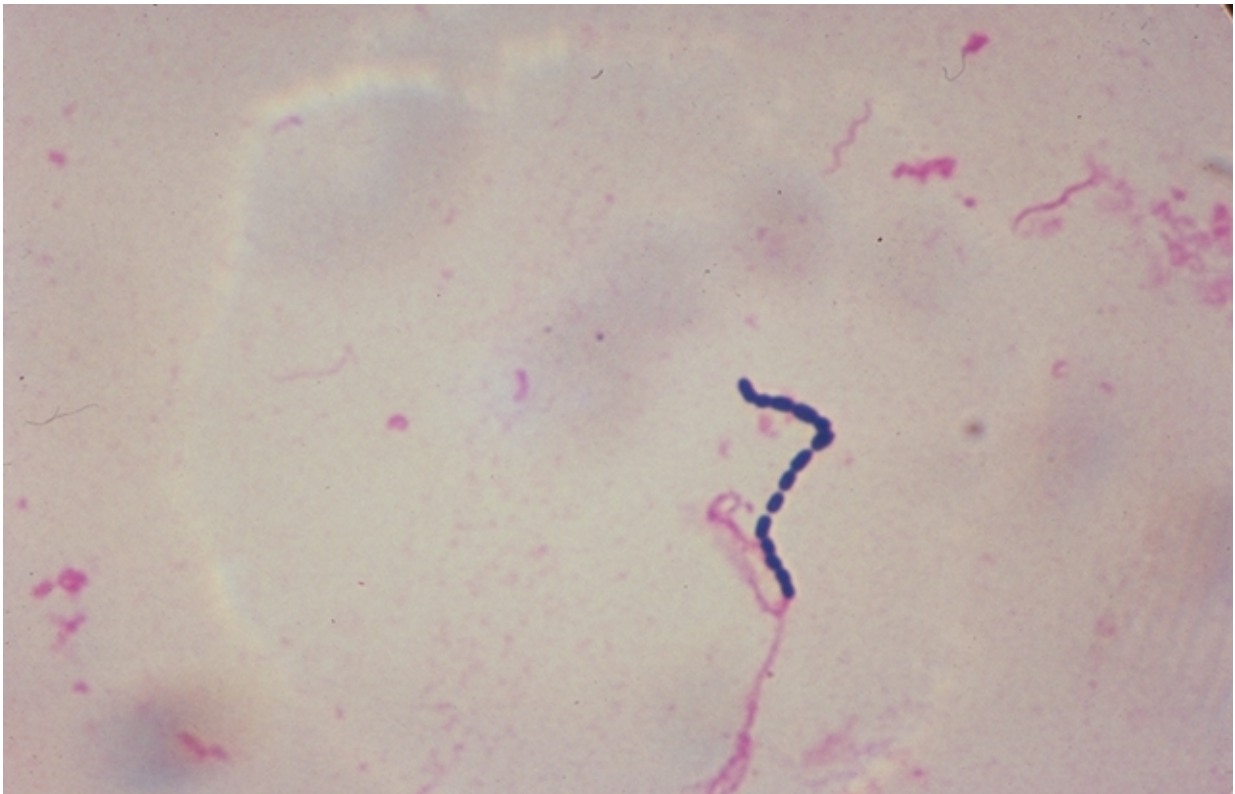


GLI STREPTOCOCCCHI

Si tratta di una delle specie batteriche maggiormente diffuse in natura, in particolare ricordiamo che si tratta di:

- cocchi gram positivi.
- si dispongono a coppie o catene: si tratta di un comportamento tipico di questo tipo di cocchi.
- sono immobili e non producono spore.
- sono capsulati: la capsula di questi batteri, in particolare dello *Streptococcus pyogenes*, è molto importante in quanto è costituita di ACIDO IALURONICO e ha anche funzione MIMETICA rispetto al sistema immunitario.
- Sono aerobi anaerobi facoltativi: sono molto versatili dal punto di vista metabolico.
- Sono batteri catalasi negativi: si tratta di un carattere estremamente utile in quanto consente di distinguerli facilmente dagli stafilococchi.

Le specie di streptococco sono numerose, questi microorganismi sono classificabili sulla base di numerosi diversi criteri.



SULLA BASE DELLE LORO CAPACITÀ EMOLITICHE:

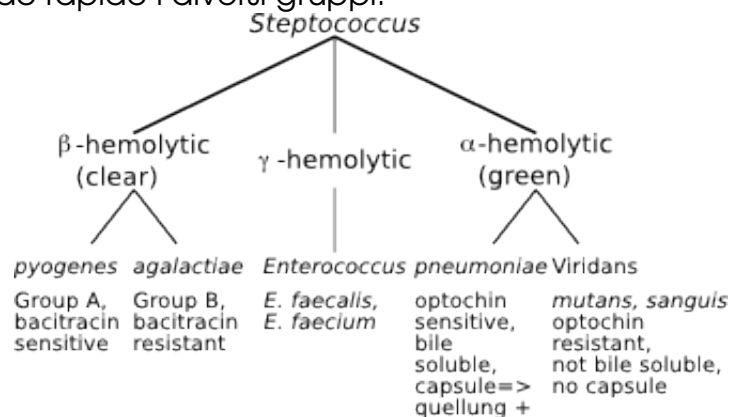
nel momento in cui tali batteri vengano immessi in un terreno ricco di globuli rossi possono presentare capacità emolitica differente:

- BETA EMOLITICI: si tratta di quei batteri dotati di CAPACITÀ DI PROVOCARE

UNA EMOLISI COMPLETA; a livello macroscopico possiamo individuare attorno alla colonia immersa in un ambiente ricco di globuli rossi un alone in trasparenza.

- ALFA EMOLITICI: sono capaci di una emolisi incompleta, si individua un alone di trasparenza attorno al globulo rosso, ma alcuni globuli sopravvivono. La piastra assume inoltre una colorazione verdastria: questi microorganismi trasformano la bilirubina in biliverdina.
- GAMMA EMOLITICI che non hanno capacità emolitica.

Si tratta di una classificazione relativamente parziale, consente tuttavia di individuare in modo rapido i diversi gruppi.



LA CLASSIFICAZIONE DI LANCEFELD:

tale classificazione si basa sul cosiddetto polisaccaride c o carboidrato di gruppo: tale polisaccaride cambia da specie a specie e Lancefeld individuò i diversi tipi di polisaccaridi di gruppo con tecniche di natura immunologica. Sulla base di questo tipo di antigene possiamo identificare:

- GRUPPI DI STREPTOCOCCI: si tratta infatti di un antigene gruppo specifico, non specie specifico.
- 18 gruppi identificati con lettere da A ad H e da K a T.

Complessivamente la ricercatrice arrivò ad identificare numerosissimi gruppi alcuni dei quali nocivi per l'uomo; in particolare ricordiamo:

- il GRUPPO A nel quale si colloca lo streptococcus pyogenes.
- Il GRUPPO B nel quale si colloca lo streptococcus agalatie.
- Il GRUPPO C che non presenta microorganismi pericolosi per l'uomo salvo in certi casi: questi microorganismi piuttosto che provocare malattie nell'uomo potrebbero rappresentare una riserva per FARMACORESISTENZE POTENZIALMENTE PERICOLOSE trasmissibili tramite i normali mezzi di intercomunicazione e scambio genetico orizzontale.
- Il GRUPPO D: appartengono a questo gruppo gli ENTEROCOCCHI, spesso difficili da replicare in laboratorio e da debellare.

Due specie in particolare non fanno parte di questa classificazione in quanto non vennero identificate da LANCEFELD:

- lo streptococcus mutans che è responsabile della carie del dente.
- Lo streptococcus pneumoniae molto comune e pericoloso.

LO STREPTOCOCCUS PYOGENES:

Si tratta di uno streptococco molto pericoloso; tale batterio può provocare:

- infezioni localizzate; ricordiamo in particolare:
 - ANGINA STREPTOCOCCICA a livello FARINGO TONSILLARE.
 - ERISPELA infezione cutanea¹.
 - IMPETIGINE infezione cutanea.
- INFEZIONI SISTEMICHE:
 - INFILTRAZIONI METASTATICHE DEL BATTERIO: si verificano nel momento in cui il microorganismo passi nel sangue.
 - SEPSI che si verifica nel momento in cui la infezione divenga diffusa e i microorganismi si moltiplichino nel sangue.
 - ENDOCARDITI, infezioni dell'ENDOCARDIO.
 - SCARLATTINA anche se unicamente rispetto ad alcuni ceppi capaci di produrre specifiche tossine.
 - FASCITE NECROTIZZANTE molto pericolosa.
 - SINDROME DA SHOCK TOSSICO.
- MALATTIE POST STREPTOCOCCICHE, si tratta di malattie non causate direttamente dallo streptococco, ma successive ad una infezione debellata:
 - malattia reumatica.
 - glomerulonefrite.

Si tratta di un microorganismo molto aggressivo quindi, la sua aggressività è legata al fatto che è capace di produrre numerosi fattori di virulenza:

- ESOENZIMI che consentono lo spostamento del batterio attraverso i tessuti, in particolare ricordiamo:
 - ialuronidasi.
 - streptochinasi.
 - DNAasi.
 - NADasi.
- EMOLISINE:
 - EMOLISINA O: non si tratta dell'enzima che provoca l'emolisi IN VITRO, agisce infatti solo in forma ridotta e in presenza di ossigeno non svolge la sua azione; tale tossina è abbastanza potente IN VIVO dove:
 - attacca globuli rossi e piastrine.
 - è un ottimo antigene ed è spesso utilizzato per identificare lo streptococcus pyogenes stesso. Per quanto riguarda il test si parla di TAS cioè titolo anti streptolisina.
 - Ricordiamo inoltre che:
 - è una proteina termolabile di 60kD.
 - Viene prodotta da tutti gli streptococchi di tipo A e da alcuni di tipo C e D.
 - agisce a livello molecolare legandosi al colesterolo di membrana.
 - EMOLISINA S: è l'enzima responsabile della emolisi in VITRO, è molto meno potente della streptolisina O sia dal punto di vista antigenico sia dal punto di vista della attività.

¹ Ricordiamo inoltre che tale patogeno può causare anche una infezione analoga MA PIÙ PROFONDA, legata cioè al tessuto connettivo del derma e al sottocute, detta CELLULITOSI.

- È un nucleopeptide dimerico di 95kD.
 - Prodotta dal 95% degli streptococchi di tipo A e da molti altri gruppi.
 - A livello molecolare agisce su fosfolipidi di membrana.
 - TOSSINA ERITROGENICA: si tratta della tossina responsabile dell'esantema maculo papuloso della scarlattina.
 - ACIDO JALURONICO CAPSULARE molto utile in quanto rende lo streptococco meno identificabile dal punto di vista antigenico.
 - PROTEINA M che presenta diverse funzioni:
 - blocca l'opsonizzazione mediata da COMPLEMENTO in quanto lega le componenti del complemento stesso.
 - Si associa al fibrinogeno.
- Risulta in ogni caso un BUON ANTIGENE e spesso rende il batterio maggiormente attaccabile dal nostro sistema immunitario; presenta fenomeni di cross reattività con alcune proteine del corpo umano.

LA TOSSINA ERITROGENICA:

si tratta di una piccola proteina di 29kD che:

- si lega all'acido ialuronico.
- si trova in ceppi lisogeni dei gruppi A, C e G: tali ceppi presentano un fago temperato integrato nel loro genoma e la tossina è di fatto codificata da una sequenza genica di natura virale.
- si presenta in diverse forme antigeniche definite A, B e C: è quindi possibile contrarre la malattia più volte.
- causa l'esantema della scarlattina.
- presenta attività;

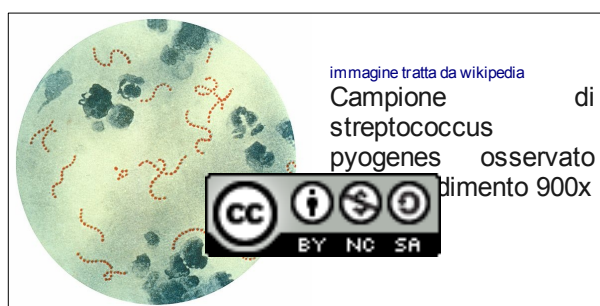


Lingua color rosso lampone (a sinistra) ed esantema maculo papuloso (a destra) due tipiche manifestazioni della scarlattina.

[immagine tratta da wikipedia](#)

[immagine tratta da wikipedia](#)

- pirogena.
- Citotossica.
- Immunosoppressiva.
- Agendo come un SUPERANTIGENE è associata alla sindrome da shock tossico.



[immagine tratta da wikipedia](#)
Campione di
streptococcus
pyogenes osservato
al microscopio 900x

PATOLOGIE CORRELATE:

come accennato in precedenza lo streptococcus pyogenes ha la capacità di provocare numerose patologie differenti.

ANGINA STREPTOCOCCICA:

dolore faringotonsillare associato alla infiammazione delle tonsille. La causa di questa patologia è spesso uno streptococco beta emolitico di tipo A, tuttavia altri patogeni possono causare questo tipo di problemi. A questo proposito ricordiamo che:

- LO STREPTOCOCCO NON HA MAI SVILUPPATO FARMACO RESISTENZE PER LA PENICILLINA E I BETA LATTAMICI.
- Generalmente la terapia prevede 48 ore di antibiotico, se il paziente si sfebbra, la diagnosi era corretta.

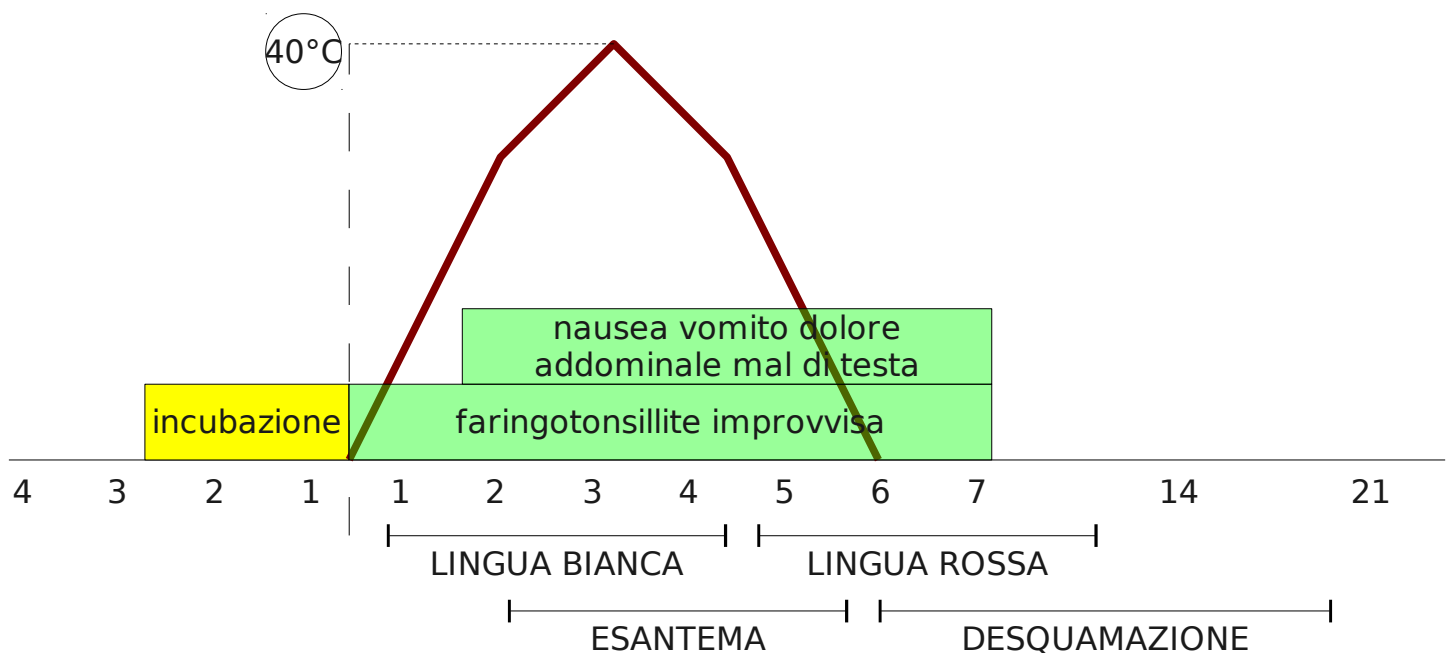
In caso di infezioni virali sarebbero in ogni caso utilizzabili unicamente sintomatici.

LA SCARLATTINA:

si tratta di una infezione che comincia generalmente con una manifestazione faringo-tonsillare, raramente con una infezione cutanea e si estrinseca con sintomi:

- febbre molto importante.
- nausea e vomito.
- cefalea.
- la angina tonsillitis streptococcica dove le tonsille divengono:
 - edemiche.
 - Caratterizzate da placche bianche: si tratta di zone di necrosi dell'epitelio tonsillare legate allo stress infiammatorio.
- la lingua bianca che diviene poi rossa a lamponi.
- Un esantema maculo papuloso che dura alcuni giorni per poi desquamare e guarire. Si tratta di macule di piccola dimensione che tendono alla convergenza.





IMPETIGINE:

si tratta di una infezione cutanea da streptococco; in linea generale si manifesta in questo modo:

- lesione cutanea multipla di elementi che tendono alla confluenza.
- se non si complica queste lesioni spariscono senza terapie particolari.

ERESIPELA:

infezione più grave, il microorganismo è più aggressivo e generalmente, se non trattata, questa infezione:

- si allarga.
- si approfonda.

può essere l'inizio di una infezione sistemica che può portare a sepsi: procede in modo piuttosto rapido e diviene pericolosa in breve tempo.



FASCITE NECROTIZZANTE:

la fascite è una infiammazione delle fasce, in particolare delle fasce muscolari. Per una qualsiasi ragione una infezione superficiale può penetrare in profondità e, superate le fasce connettivali, aggredire i piani muscolari divenendo molto pericolosa. Fondamentalmente in questi casi:

- I piani muscolari infetti si spappolano, divengono addirittura prelevabili con un tampone.
- Il paziente presenta dolori e febbre.

Si tratta di un quadro patologico relativamente raro ma possibile.



Fascite necrotizzante a livello dell'arto inferiore.

immagine tratta da wikipedia

LA ENDOCARDITE:

Lo streptococcus pyogenes ha una forte tendenza ad entrare nel sangue e a portarsi soprattutto a livello dell'ENDOCARDIO VALVOLARE dove:

- aderisce alla valvola.
- erode la valvola.
- forma delle popolazioni a livello della superficie.
- può anche rompere la valvola cardiaca.

alla rottura della valvola il paziente muore, generalmente, per edema polmonare. Non è l'unico batterio capace di fare questo, ma sicuramente molto di frequente i casi di endocardite sono da imputarsi alla attività di tale streptococco. si tratta di una malattia:

- relativamente rara.
- si estrinseca come una febbre la cui causa non è chiara.
- se non trattata può divenire anche mortale.

L'ENDOCARDITE su VALVOLA NATIVA cioè su una valvola non artificiale può essere causata, come si accennava in precedenza, da diversi patogeni:

- nel 55% di casi si tratta di streptococchi soprattutto il pyogenes.
- Nel 30% dei casi il responsabile è lo stafilococcus aureus.
- Nel 5% dei casi il responsabile è uno stafilococcus epidermidis: questo si verifica soprattutto per iniezioni non controllate e non sterili.
- Cause possibili di questo tipo di patologia sono anche la candida albicans per esempio.

Molto utili nella diagnosi di questo tipo di patologia possono essere alcuni segni a livello delle mani:

- noduli di Osler: si tratta di noduli che vengono a formarsi a livello della mani e che sono dovuti all'accumulo di immunocomplessi.
- Piccole emorragie a livello del letto ungueale.

Questi segni sono molto utili in quanto rendono possibile la identificazione di una patologia per la quale le analisi del campione plasmatico sono inutili: molto spesso la quantità di patogeno circolante è in fatti troppo piccola per essere rilevata.

LA PROTEINA M:

si tratta di una proteina:

- termostabile e resistente a pH acido.
- presenta circa 60 varianti antigeniche.
- ha attività adesiva.
- ha attività antifagocitica.
- ha reattività crociata con tessuti umani: presenta cioè delle similitudini strutturali con antigeni tissutali che contribuiscono all'occultamento del suo potere antigenico. Tale fenomeno può divenire molto pericoloso.

strutturalmente la proteina M si colloca all'interno della capsula batterica, viene tuttavia individuata dal nostro sistema immunitario molto spesso.

LE MALATTIE POST STREPTOCOCCICHE:

si tratta di malattie che avvengono a seguito di una infezione da streptococcus pyogenes debellata; individuiamo due quadri patologici in particolare:

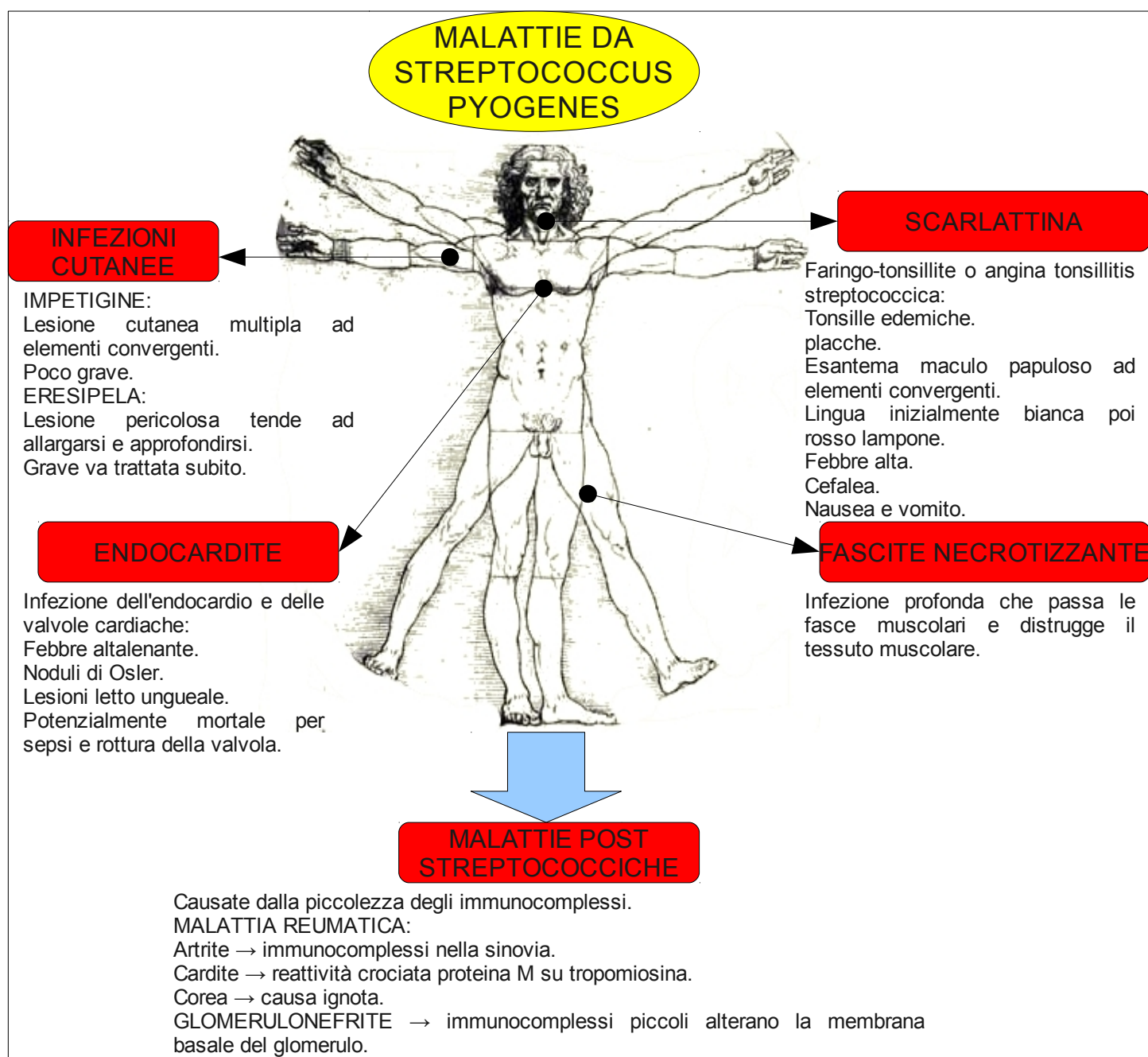
- MALATTIA REUMATICA: la malattia reumatica è una malattia complessa, si manifesta come:
 - ARTRITE: legata alla presenza di alcuni immunocomplessi particolari, l'aspetto del complesso immune dipende dalla concentrazione e dalla stechiometria delle due componenti formanti il complesso stesso; nel momento in cui vi sia:
 - un ECCESSO DI ANTIGENE si formeranno COMPLESSI PICCOLI in quanto gli anticorpi sono relativamente pochi rispetto al volume antigenico.
 - in condizioni normali I COMPLESSI SONO INVECE GRANDI.Nel caso in cui si formino dei piccoli complessi immuni, questi possono essere non riconosciuti dal sistema immunitario e quindi non venire eliminati. Tali complessi scorrono nel sangue e si fermano a livello della MEMBRANA SINOVIALE DELLE ARTICOLAZIONI in particolare grosse articolazioni come:
 - ginocchio.
 - caviglia.
 - anca.
 - CARDITE: questo aspetto è legato non alla attività diretta del microbo che agisce sull'endocardio, come avviene invece per la endocardite, bensì ALLA AZIONE DELLA PROTEINA M in particolare rispetto ad alcune delle numerose varianti antigeniche di questa proteina che PRESENTANO UNA SOMIGLIANZA STRUTTURALE CON LA TROPOMIOSINA CARDIACA:
 - la proteina M viene considerata, ovviamente, non self e vengono

- prodotti degli anticorpi anti proteina M.
- gli anticorpi anti proteina M reagiscono CONTRO LA TROPOMIOSINA CARDIACA in un fenomeno di reattività crociata.
- COREA: si tratta di un fenomeno neurologico; ad oggi non si sa con certezza a cosa sia legato.
- accanto a queste tre manifestazioni possiamo trovare:
 - febbre.
 - noduli sottocutanei.
- GLOMERULONEFRITE: i piccoli immunocomplessi sopra descritti, oltre che a livello della sinovia si depositano anche a livello della MEMBRANA BASALE DEL GLOMERULO BLOCCANDO LA FILTRAZIONE RENALE. Si assiste quindi ad una INSUFFICIENZA RENALE TRANSITORIA per la quale si assiste a:
 - netta diminuzione della superficie filtrante.
 - contrazione dei capillari glomerulari.
 - espansione del mesangio intraglomerulare.Se non si procede nel modo corretto o non si interviene:
 - si altera la membrana basale del glomerulo e possiamo avere ALBUMINURIA se non EMATURIA; in particolare si parla di urine a lavatura di carne, lievemente rosate.

- diminuzione della superficie di filtrazione che può divenire anche non reversibile e tradursi in una INSUFFICIENZA RENALE.

Un altro fenomeno, ormai debellato, legato a questo microorganismo, è la SEPSI PUERPERALE dove infezioni da pyogenes venivano trasmesse direttamente dal medico alla paziente gravida.

Secondo alcune teorie neuropediatriche sembra che tali infezioni siano associata alla evoluzione di comportamenti ossessivi compulsivi o TIC tanto da far coniare il termine PANDAS cioè patologie autoimmuni neuropsichiatriche associate ad infezione da streptococco. In ogni caso ad oggi NESSUNO STUDIO È RIUSCITO A DIMOSTRARE IN MODO CERTO LA ASSOCIAZIONE TRA I DUE FENOMENI né TANTOMENO A SMENTIRLA.



STREPTOCOCCUS AGALATIE:

si tratta di un microorganismo relativamente poco aggressivo, può creare problemi:

- in bambini pretermine.
- in bambini molto piccoli.

tra le patologie che questo microorganismo può causare distinguiamo:

- MALATTIE AD INSORGENZA PRECOCE che si manifestano prima dei 7 giorni di vita; tali patologia sono chiaramente associate ad infezioni, asintomatiche per la madre, del canale del parto; se contratto in questo modo lo streptococcus agalatie può essere causa di:
 - **POLMONITE.**
 - **SEPSI.**
 - **MENINGITE:** si tratta di una meningite particolare, si presenta a volte priva di alcuni sintomi caratteristici quali la rigidità nucale. Viene a volte sottostimata e trascurata tanto da portare alla morte del bambino o a reliquati significativi quali LA SORDITÀ.

potenzialmente letali per il bambino. Si tratta DELLA PRIMA CAUSA NELL'OVEST DEL MONDO DI SEPSI DEL NEONATO. Possibili modi per evitare tutto questo sono PROFILASSI ANTIBIOTICHE e EVENTUALI VACCINAZIONI DELLA MADRE prima della gravidanza.

- MALATTIE AD INSORGENZA TARDIVA che si manifestano tra la prima e la dodicesima settimana di vita; si tratta di malattie che insorgono nel nido dell'ospedale generalmente²; in questi casi lo streptococcus agalatie generalmente provoca una **MENINGITE PURULENTA** che
 - ha una letalità intorno al 20%.
 - può lasciare reliquati neurologici permanenti anche gravi.

Altri microorganismi potenzialmente pericolosi per il bambino appena nato, oltre all'agalatie, possono essere:

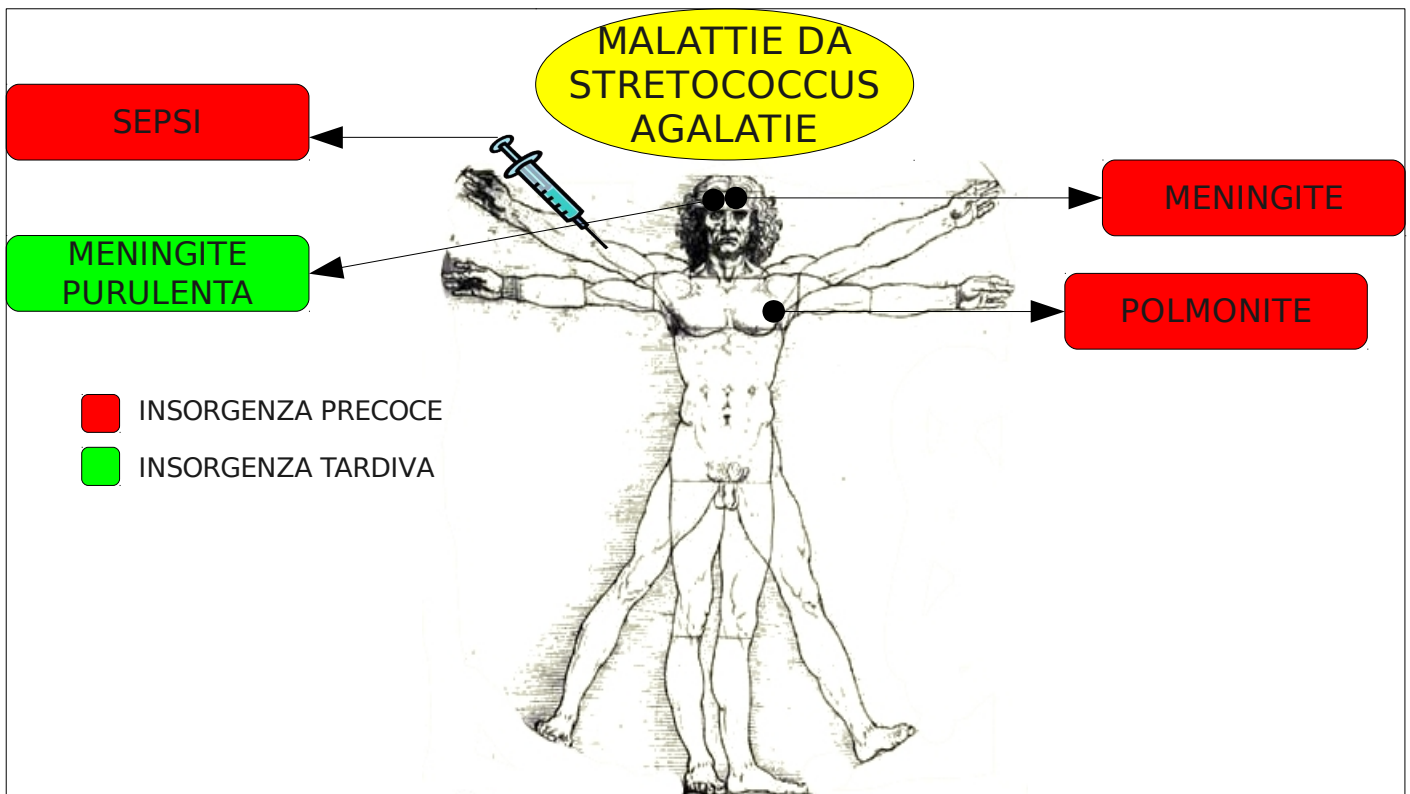
- neisseria meningitidis.
- herpes virus.

2 tali infezioni sono legate quindi sia all'ambiente ospedaliero sia alle condizioni anomale del bambino (che normalmente dopo alcuni giorni va a casa).

- HBV virus dell'epatite b.
- alcuni tipi di escherichia coli fortemente capsulati: tali batteri possono essere causa di meningiti significative anche se la frequenza è molto bassa.

Risulta facilmente identificabile in laboratorio tramite:

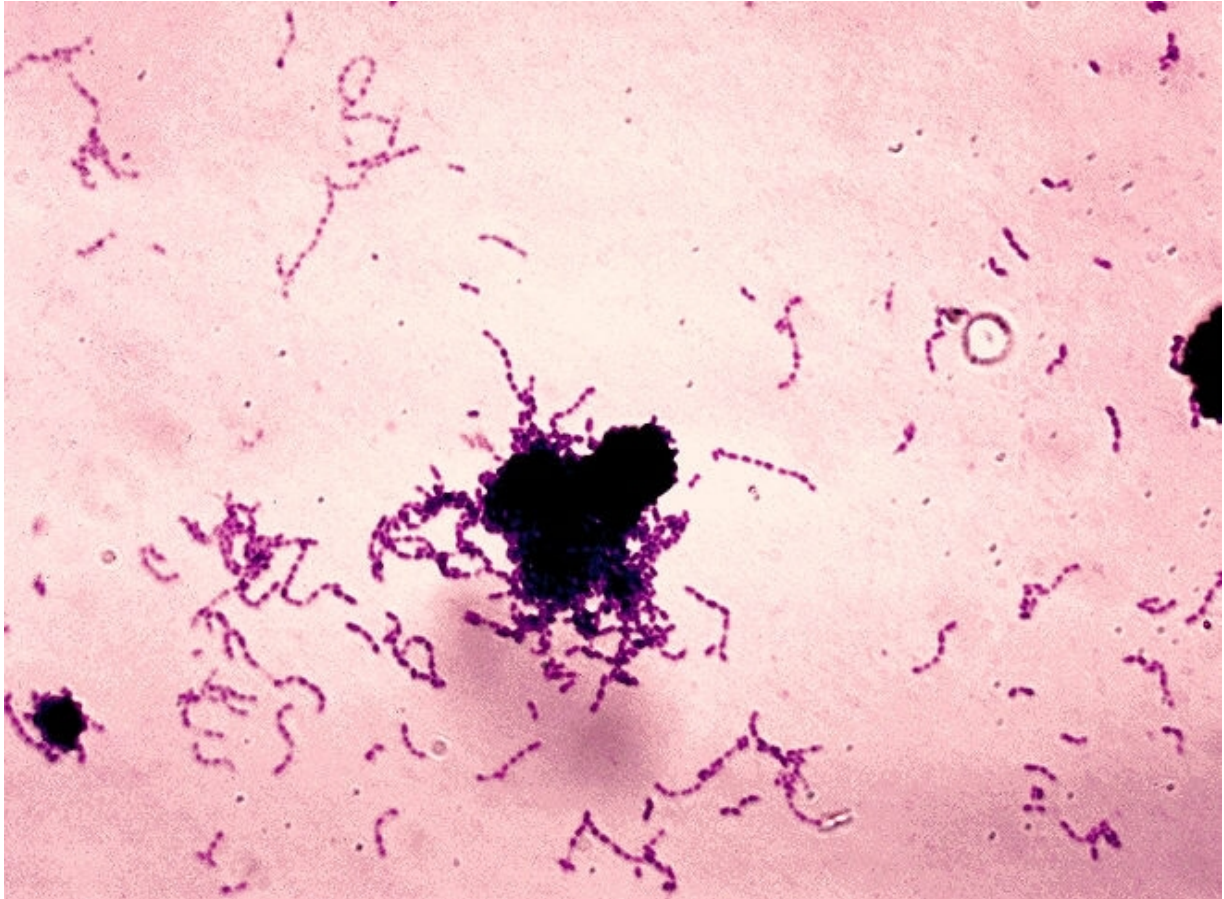
- appositi test come CAMP che ne valuta la capacità di idrolizzare il sodio ippurato.
- Il fatto che questo microorganismo è sensibile alla presenza di bile e va incontro a lisi in contatto con essa.



STREPTOCOCCUS MUTANS:

non è incluso in nessuno dei gruppi di Lancefeld e vive comunemente nel cavo orale, in modo quasi ubiquitario nella popolazione; tale batterio è la causa:

- della placca dentaria.
- Della carie dentaria.



Colonia di streptococcus mutans.

LA PLACCA DENTARIA:

questo microorganismo metabolicamente degrada il saccarosio in GLUCOSIO E FRUTTOSIO per poi FORMARE, tramite appositi enzimi:

- GLUCANI.
- FRUTTANI.

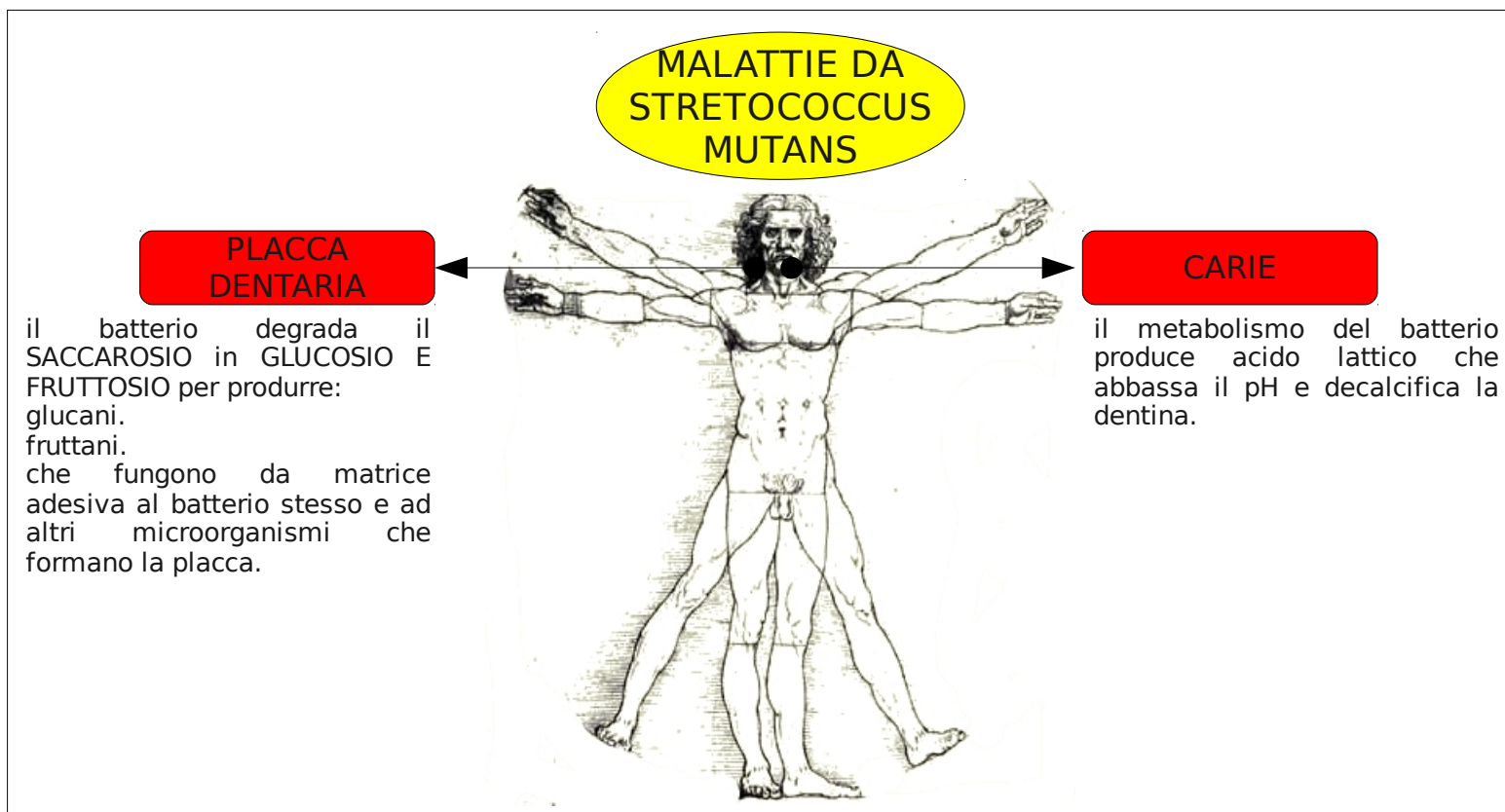
si tratta di polimeri così collosi che si associano al dente e consentono al batterio di permanere in sede; oltre a servire lo streptococcus mutans, tali composti stimolano la permanenza di altri tipi di batteri e microorganismi producendo in questo modo la PLACCA che può essere alla base del fenomeno della carie.

LA CARIE DEL DENTE:

Fondamentalmente il processo che porta alla formazione della carie procede in questo modo:

- il batterio METABOLIZZA e brucia molecole GLUCIDICHE.
- SI ATTIVA UNA VIA FERMENTANTE.
- IL BATTERIO PRODUCE ACIDO LATTICO.

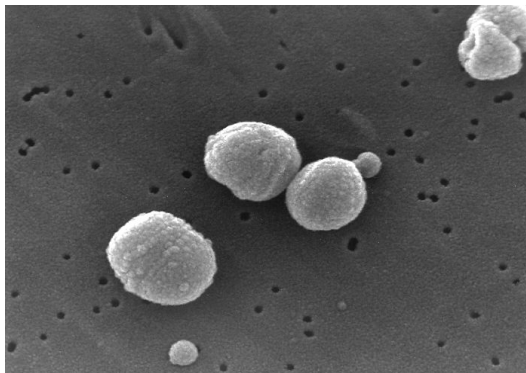
l'acido lattico liberato sulla superficie del dente ABBASSA IL PH E DEMINERALIZZA LA DENTINA, questa perde i sali di calcio e si disgrega fino a portare alla formazione di una vera e propria carie.



STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE:

anche questo microorganismo non rientra nella classificazione di Lancefeld e la sua presenza è associata a quadri patologici abbastanza gravi:

- meningite batterica.
- sinusite.
- otite media.
- polmonite batterica in particolare si parla DI POLMONITE LOBARE O POLMONITE FRANCA.
- endocarditi a frequenza relativamente rara.
- peritoniti a frequenza relativamente rara.



Streptococcus pneumoniae al microscopio elettronico a scansione.

LA POLMONITE LOBARE:

un tempo si parlava di polmonite lobare in quanto colpiva, generalmente un solo lobo di uno dei due polmoni, oggi difficilmente si hanno quadri patologici di questo tipo e le polmoniti colpiscono tutto il tessuto polmonare sovvertendolo:

- si parla di EPATIZZAZIONE DEL POLMONE: il polmone assume a livello tissutale una consistenza simile a quella del fegato, solida e parenchimatosa. Questo è dovuto ad un forte accumulo di COMPONENTI TIPICHE DELLA INFIAMMAZIONE.
- un polmone giunto alla fase di epatizzazione porta al paziente una insufficienza respiratoria grave.

OTITE MEDIA ACUTA:

si tratta di una infezione grave dell'orecchio medio: l'accumulo di materiale purulento in sede d'infezione può portare alla perforazione del timpano.

- molto più frequente in età pediatrica.
- molto dolorosa per il bambino.

INTERAZIONI CON L'HEMOPHILUS INFLUENZAE:

sembra vi siano delle interazioni forti tra questi due batteri: è importante sottolineare il fatto che nel momento in cui le due specie entrano in contatto, la produzione da parte dello streptococco di acqua ossigenata, uccide l'hemophilus sistematicamente. Quello che incuriosisce è che:

- IN PRESENZA DI ENTRAMBI I BATTERI L'ORGANISMO SCATENA UNA RISPOSTA IMMUNITARIA DI MAGGIOR CALIBRO.
- Nel momento in cui DEI NEUTROFILI SIANO STATI ESPOSTI AD HEMOPHILUS INFLUENZAE questi presenteranno una MAGGIORE AGGRESSIVITÀ RISPETTO ALLO STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE.

Non è ad oggi chiaro quale sia la interazione tra queste due specie batteriche, ma sembra che la copresenza delle stesse nell'organismo umano sia in grado di scatenare una risposta immunitaria consistente.

GLI ENTEROCOCCI:

Si tratta di microorganismi dall'elevata patogenicità, ma molto poco frequenti, soprattutto ricordiamo:

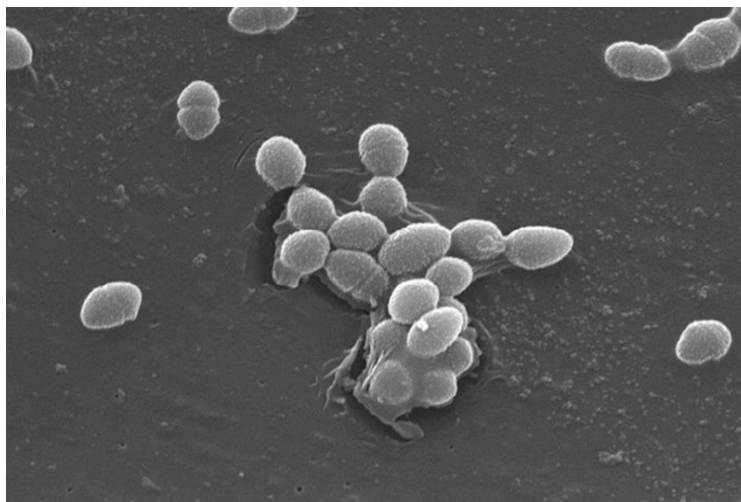
- enterococcus faecalis, normalmente presente nell'intestino umano.
- enterococcus faecium normalmente presente nell'intestino umano.
- enterococcus durans.

si tratta di streptococchi appartenenti al gruppo D della classificazione di Lancefeld.

Questi microorganismi sono coinvolti in patologie quali:

- **infezioni urinarie.**
- **prostatiti:** la prostata è un tessuto difficilmente permeabile e raggiungibile, tali infezioni richiedono quindi terapie prolungate.
- **sepsi.**

- **endocarditi.**



Enterococcus faecalis al microscopio elettronico a scansione

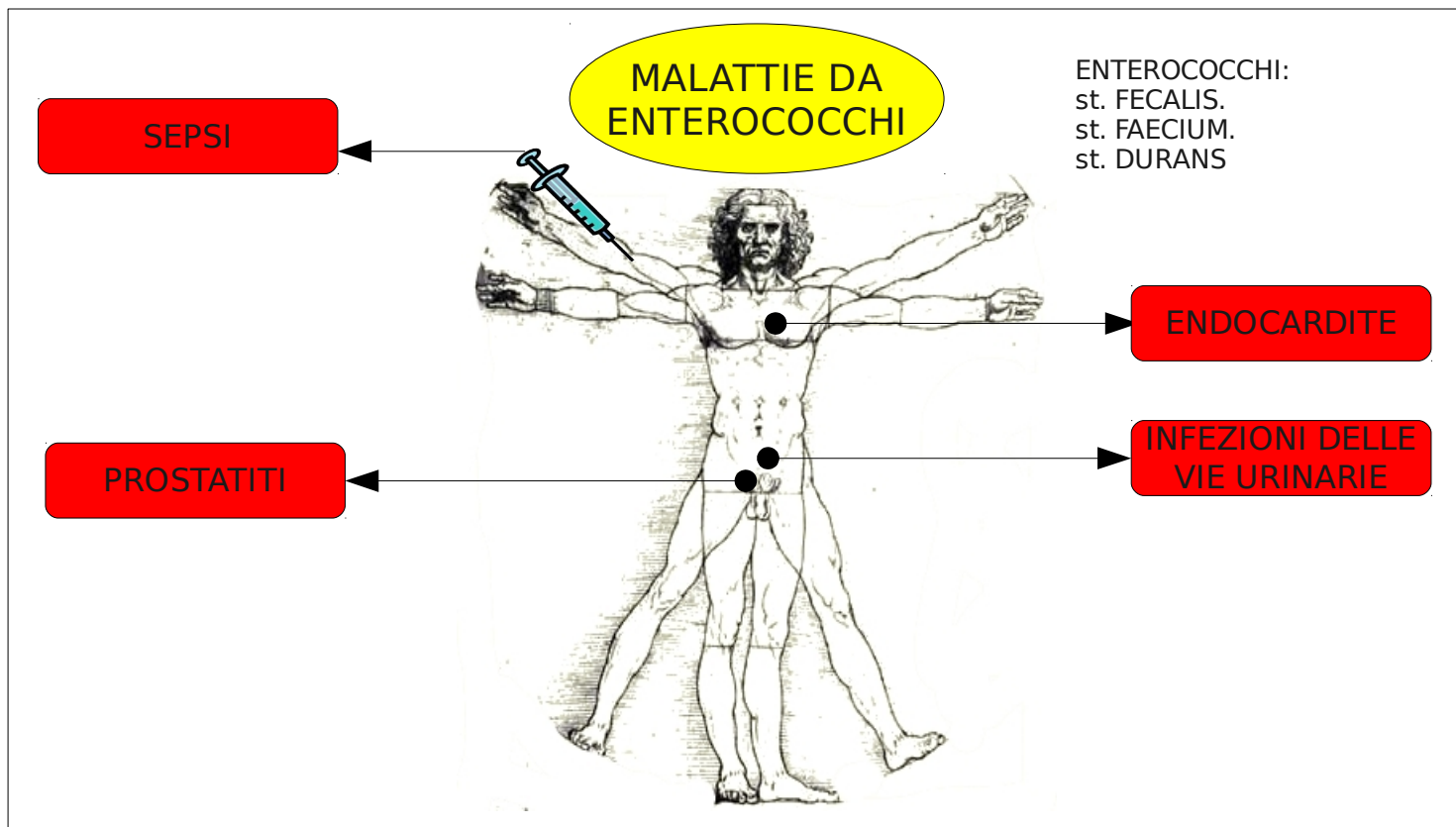
per quanto riguarda la terapia antibiotica:

- generalmente sono sensibili ai BETA LATTAMICI anche se di fatto rispondono unicamente ai farmaci più antichi come i derivati della penicillina.
- sono resistenti ai farmaci glicosidici.
- si registra la presenza di ceppi di ENTEROCOCCHI VANCOMICINO RESISTENTI o VRE: si tratta di una resistenza dalle ricadute molto consistenti a livello terapeutico in quanto la vancomicina può essere l'ultimo farmaco utile contro questo tipo di batteri.

la VANCOMICINA ricorriamo blocca il trasporto del monomero NAM-NAG-pentapeptide associandosi al dimero DalaDala dello stesso e bloccandone la associazione con il suo trasportatore, l'undeca prenol fosfato. I batteri VANCOMICINO RESISTENTI SONO CAPACI DI SOSTITUIRE L'ULTIMA Dalanina DEL COMPLESSO CON UNA MOLECOLA DI ACIDO LATTICO. È importante sottolineare come per poter costituire un sistema di questo tipo il batterio deve sviluppare:

- un enzima che riduca l'acido piruvico ad acido lattico.
- una nuova ligasi per sintetizzare il dimero Dala-lattato.
- una nuova PBP che consenta di separare il dimero neosintetizzato, come avveniva per il dimero DalaDala.
- altre 8 competenze i cui geni si collocano sul medesimo cromosoma delle tre precedentemente descritte.

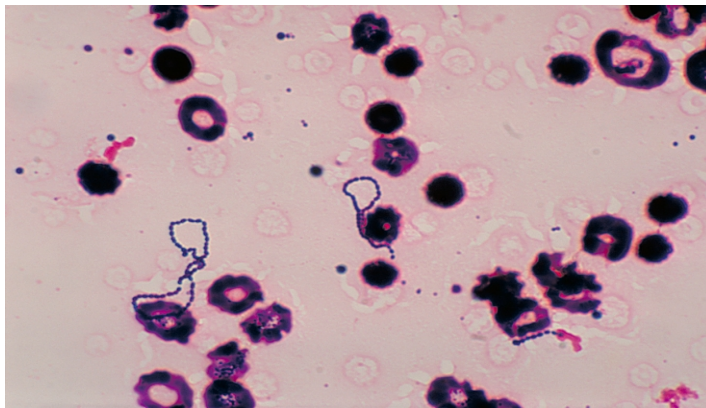
si tratta quindi di un procedimento molto complesso.



STREPTOCOCCHI VIRIDANTI:

GLI STREPTOCOCCHI VIRIDANTI sono streptococchi tipicamente presenti nel cavo orale ma capaci di provocare soprattutto **ENDOCARDITI** e soprattutto **su VALVOLE DANNEGGIATE**. Questi microorganismi possono raggiungere il cuore tramite traumi causati da interventi odontoiatrici; in particolare in caso di pazienti cardiopatici prima di un intervento di natura odontoiatrica è necessario eseguire UNA PROFILASSI capace di bloccare, tramite l'uso di un antibiotico, la penetrazione da parte del batterio nel tessuto prima o nel momento stesso in cui si esegue la lesione³.

3 una tale azione preventiva prevede chiaramente una conoscenza dell'antibiotico e della sua emivita e capacità di penetrazione.



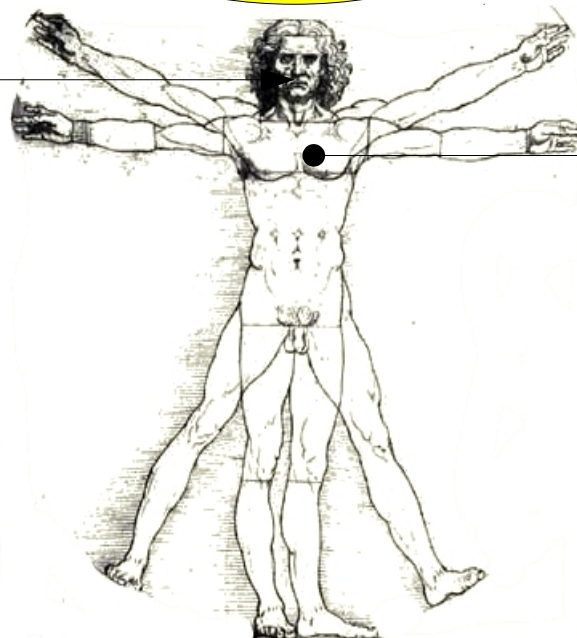
Gruppo di streptococchi viridanti in coltura.

STREPTOCOCCHI VIRIDANTI sono:

- streptococcus mutans.
- streptococcus salivarius.
- streptococcus sanguis.
- streptococcus mitior che può diventare aggressivo a seguito di condizioni particolari.
- streptococcus milleri.

**MALATTIE DA
STREPTOCOCCHI
VIRIDANTI**

penetrazione dal
cavo orale



STREPTOCOCCHI VIRIDANTI:

st. mutans.
st. salivarius.
st. sanguis.
st. mitior.
st. milleri.

**ENDOCARDITE
su valvola danneggiata**

LE VACCINAZIONI:

sono a disposizione più vaccini contro questo tipo di microorganismi; tali vaccini:

- vengono prodotti sulla base del polisaccaride della capsula, ma sappiamo che i polisaccaridi non sono dei buoni antigeni
- è costituito di 23 polisaccaridi capsulari purificati ed è presente in 80 forme differenti.

- è in fase di studio un vaccino coniugato: si tratta della associazione tra il polisaccaride di membrana e un complesso proteico che renda più immunogenica la struttura del polisaccaride stesso. A livello farmacologico è importante sottolineare che esistono 70-80 varianti diverse di polisaccaride di superficie, occorre quindi selezionare le specie più presenti e virulente.

IDENTIFICAZIONE DEGLI STREPTOCOCCI:

per quanto riguarda la osservazione microscopica del vetrino è possibile evidenziare gli streptococchi, e quindi osservare diverse coppie batteriche a forma rotondeggiante ovale, utilizzando questa tecnica:

- si prende inchiostro di china.
- si stempera il campione.
- si osservano i batteri.

l'inchiostro di china non penetra la capsula del batterio che appare bianca in contrasto con tutto il resto del campione.

IDENTIFICAZIONE DELLA SPECIE DI STREPTOCOCCO:

In linea generale nel momento in cui si individui un cocco gram positivo, si eseguono alcune analisi per determinare a quale categoria esso appartenga; generalmente si prosegue in questo modo:

- TEST SULLA CATALASI:
 - SE POSITIVO allora si tratta di stafilococchi.
 - SE NEGATIVO allora si tratta di streptococchi.
- EMOLISI IN AGAR: si osserva la capacità emolitica dello streptococco individuato e si determina a quale classe appartenga:
 - alfa emolitico (emolisi parziale).
 - beta emolitico (emolisi totale).
 - gamma (nessuna emolisi).
- Nel caso in cui si tratti di uno streptococco BETA EMOLITICO possiamo valutare se si tratta di un PYOGENES tramite la prova di sensibilità alla bacitracina; tale test si esegue analogamente ad un antibiogramma, ma con solo dischetto di BACITRACINA:
 - SE POSITIVO APPARTIENE ALLA SPECIE PYOGENES.
 - SE NEGATIVO È NECESSARIO ANALIZZARE IL POLISACCARIDE.il modo migliore per analizzare il polisaccaride di membrana è la AGGLUTINAZIONE CON LATTICE.
- NEL CASO IN CUI SI TRATTI DI STREPTOCOCCI ALFA EMOLITICI, tra cui ricordiamo si colloca lo streptococcus pneumoniae, si esegue un test di sensibilità alla OPTACHINA:
 - se risulta positivo, la specie si individua in uno STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE.
 - se la prova risulta negativa, si tratta di uno streptococco viridante: si tratta di una risposta GENERICA ma CHE DOVREBBE ESSERE GIÀ SUFFICIENTE ad impostare una terapia efficace⁴.

4 generalmente non si eseguono indagini ulteriori in quanto non sarebbero necessarie e rappresenterebbero una perdita di tempo e di denaro.

GLI ENTEROBATTERI:

gli enterobatteri sono una classe molto estesa di microorganismi; si presentano come:

- BASTONCINI GRAM NEGATIVI.
- non fanno spore.
- si muovono in quanto presentano una grande quantità di flagelli.
- sono molto versatili dal punto di vista metabolico:
 - aerobi-anaerobi facoltativi.
 - necessitano di pochissime sostanze:
 - una fonte carbonio.
 - una fonte di azoto anche inorganico.
 - pochi altri sali.
 - sono anche glucosio fermentanti.
- ossidasi negativi.
- Presentano una lunghezza variabile da 1 a 5 μm .

I GENERI PIÙ IMPORTANTI DI ENTEROBATTERI sono sicuramente:

- ESCHERICHIA al quale appartengono:
 - escherichia coli.
- SALMONELLA al quale appartengono:
 - salmonella typhi.
 - salmonella paratyphi A.
 - salmonella paratyphi B.
 - salmonella paratyphi C.
 - salmonella enteritidis.
- SHIGELLA:
 - shigella dysenteriae.
 - shigella flexneri.
- KLEBSIELLA:
 - klebsiella pneumoniae.
- ENTEROBACTER:
 - enterobacter cloacae.
 - enterobacter agglomerans.
- SERRATIA:
 - serratia marcescens.
 - serratia liquefaciens.
- PROTEUS:
 - proteus mirabilis.
 - proteus vulgaris.
- CITROBACTER:
 - citrobacter freundii.

le singole specie sono poi numerosissime, le salmonelle sono centinaia.

Tra questi tipi di batteri possiamo distinguere:

- PATOGENI CONVENZIONALI come:



- salmonelle.
- shigelle: sono molto poco presenti in Italia, ma vengono spesso importate con le migrazioni.
- escherichia coli enteritogeni: sono coli capaci di produrre alcune particolari tossine.
- **PATOGENI OPPORTUNISTICI** che sono tutti gli altri enterobatteri.

PATOLOGIE CORRELATE:

Gli enterobatteri possono provocare diversi tipi di patologie.

ENTERITI-GASTROENTERITI:

infezioni che si manifestano tipicamente con questa sintomatologia sono:

- salmonellosi.
- shigellosi.
- infezioni da escherichia coli enteritogeni.

non sono semplicemente delle infezioni locali, possono divenire infatti facilmente **SISTEMICHE**.

INFEZIONI EXTRAINTESTINALI:

I patogeni convenzionali presentano come sintomatologia principale una sintomatologia di natura gastroenterica anzitutto, infezioni di natura extraintestinale sono:

- DI NATURA ENDOGENA QUASI SEMPRE.
- PRINCIPALMENTE URINARIE.

si tratta di specie batteriche che migrano dall'intestino portandosi a livello spesso dell'apparato urinario: si parla di **AUTI ascending urinary tract infections** in quanto il batterio dall'ano si porta all'uretra per poi risalire le vie urinarie. Per le notevoli differenze anatomiche tra uomo e donna, la donna risulta 14 volte più soggetta a questo tipo di infezioni, soprattutto per quanto riguarda *Escherichia Coli*. Infezioni discendenti, molto più rare, derivano dall'accesso del batterio alle strutture renali direttamente dal sangue.

INFEZIONI SISTEMICHE:

in particolare associate a questo tipo di batteri ricordiamo:

- tifo.
- paratifo.

si tratta di infezioni sistemiche potenzialmente molto gravi che derivano generalmente dalla erosione della mucosa intestinale e dall'ingresso del patogeno nel sistema linfatico e nella circolazione sanguifera.

ESCHERICHIA COLI:

L'*escherichia coli* è coinvolto soprattutto in infezioni dell'**APPARATO URINARIO**; questo è tanto vero che per quanto riguarda le infezioni **URINARIE IN ASSOLUTO**

- in pazienti sani sono **CAUSATE PER L'80% DEI CASI DA ESCHERICHIA COLI**.
- in ambiente ospedaliero permangono **ELEVATI I CASI LEGATI A ESCHERICHIA COLI**, ma possono essere legati anche ad altri tipi di patogeni o di cause e fattori predisponenti quali:
 - cateteri.
 - interventi chirurgici.

In ogni caso il coli permane una causa prima, conta infatti per il 40% dei

casi.

HEMOLITIC UREMIC SYNDROME o HUS:

si tratta di una grave patologia contraddistinta da sintomi quali:

- anemia emolitica.
- Insufficienza renale grave.
- Trombocitopenia.

Si tratta di una patologia che colpisce prevalentemente, ma non esclusivamente, i bambini e spesso segue ad una DIARREA CAUSATA DA UN CEPPLO PATOGENO DI ESCHERICHIA COLI detto O157:H7. Si tratta di una patologia molto pericolosa che, se non trattata, porta nel 5-10% dei casi alla morte e, anche se raramente, può causare una insufficienza renale cronica.

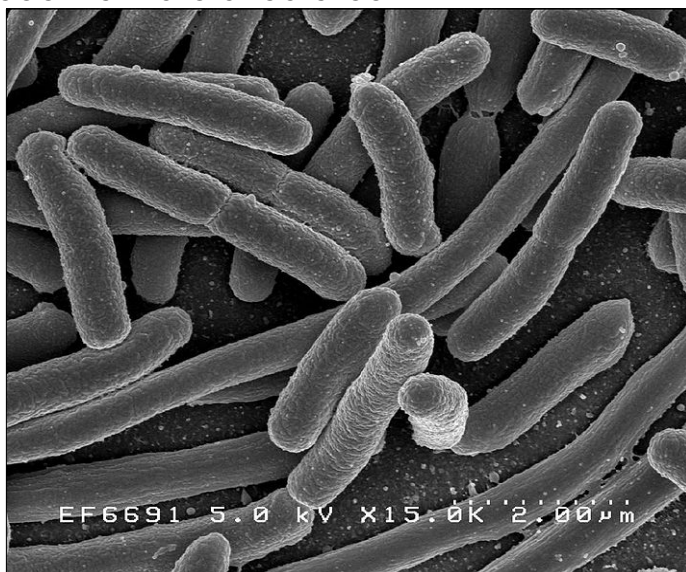
A seguito di trattamenti in ogni caso la stragrande maggioranza dei pazienti sopravvive, oltre il 90%, ma possono presentarsi delle conseguenze a lungo termine quali:

- insufficienza renale cronica.
- Incremento della pressione arteriosa.
- Problemi di natura neurologica quali:
 - anomalo incremento della attività di alcune aree cerebrali.
 - Paralisi.
 - Calo della vista.

Il maggiore veicolo per questo ceppo di Escherichia coli è sicuramente LA CARNE CRUDA ma anche LA VERDURA LAVATA MALE.

È importante sottolineare il fatto che il trattamento con antibiotici DI UNA DIARREA CAUSATA DA COLI O157:H7 SEMBRA ADDIRITTURA INCREMENTARE IL RISCHIO DI UNA HUS: il batterio diviene infatti maggiormente aggressivo.

Il coli può essere pericoloso QUANDO PRESENTI UNA CAPSULA K1 e PUÒ PORTARE A MENINGITE: la capsula somiglia molto a quella di altri tipi di batteri causa di meningite come lo streptococcus agalatie e di neisseria meningitidis. Analogamente ad altri batteri causa di meningite, anche questo batterio è capace di SECERNERE CAPSULE che vengono riconosciute e attaccate dal sistema immunitario, inoltre l'antigene capsulare K1 risulta simile ad antigeni self prodotti a livello encefalico.



Colonia di ESCHERICHIA COLI al microscopio elettronico a scansione.

immagine tratta da wikipedia

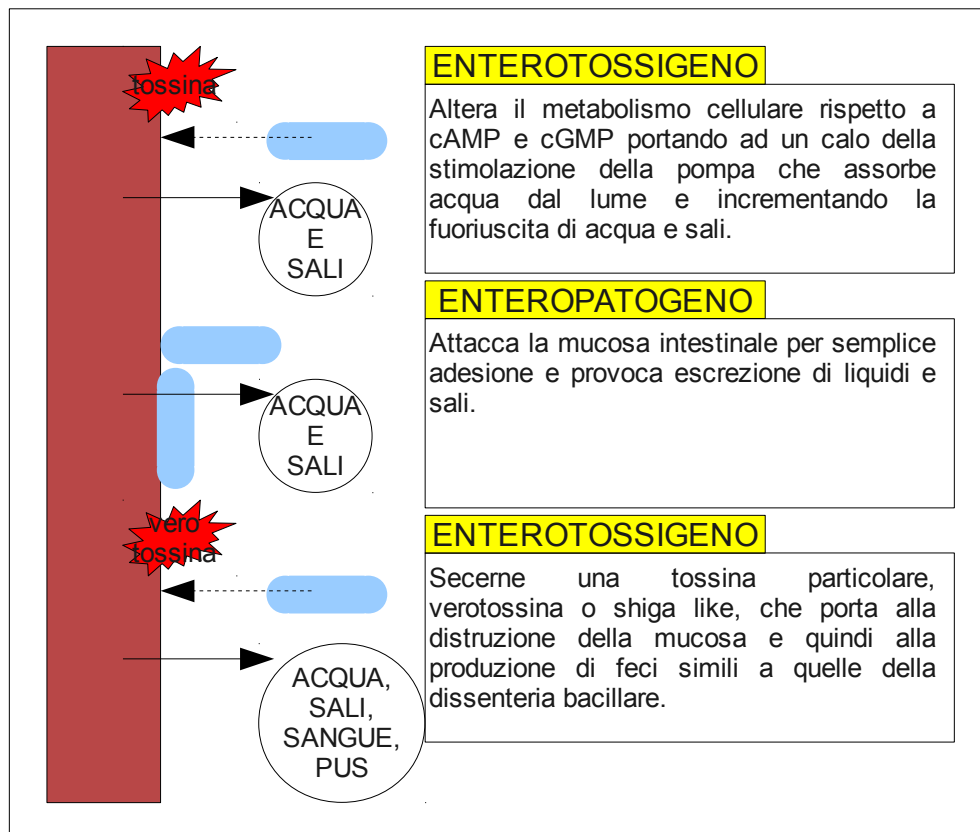
I FATTORI DI VIRULENZA DEL COLI PATOGENO:

presenta numerosi fattori di virulenza:

- ADESINE in particolare FIMBRIE che in virtù della differente struttura che presentano, possono avere preferenze per dati tessuti, in particolare:
 - FIMBRIE P espresse da ceppi nefritogeni, hanno preferenza per l'apparato urinario.
 - FIMBRIE DI TIPO IV nei ceppi enteropatogeni.
- ENDOTOSSINA che agisce analogamente alle endotossine di altri batteri.
- ENTEROTOSSINE tipiche dei ceppi enteropatogeni.

I CEPI ENTEROPATOGENI:

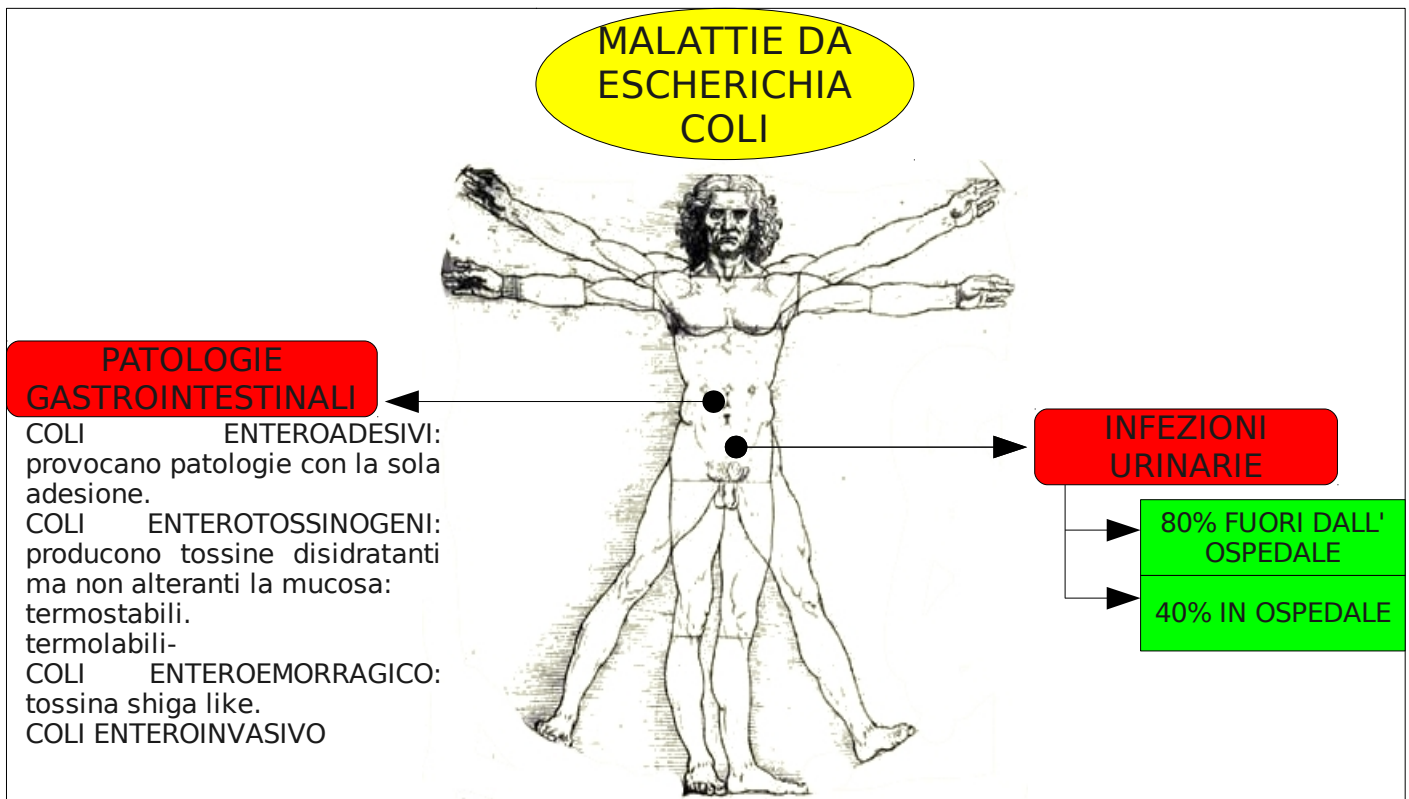
i ceppi enteropatogeni possono esprimere diversi tipi di ENTEROTOSSINE e causare PATOLOGIE IN MISURA E MODI DIFFERENTI:



- COLI ENTEROADESIVI o ENTEROPATOGENI che sono capaci di provocare patologie anche con la semplice ADESIONE ALLA MUCOSA.
- ENTEROTOSSIGENO che produce tossine simili a quelle del vibrione del colera: tali tossine alterano il metabolismo del cGMP e del cAMP e fanno in modo che la cellula secerna una enorme quantità di liquidi e sali minerali, in linea generale si manifesta con una diarrea osmotica. Esistono due tipi di tossine:
 - termostabile.
 - termolabile.
- ENTEROEMORRAGICO che produce una TOSSINA SHIGA-LIKE: si tratta di una tossina capace di creare una sindrome dissenterica. Strutturalmente la tossina è differente dalle tossine delle shigelle e viene detta VEROTOSSINA¹. A

¹ per dimostrare che il ceppo di coli produce questa tossina è sufficiente incubarlo con un tipo particolare di cellule,

questo gruppo appartiene anche O157-H7.



Si è riscontrato un netto aumento di questo tipo di batteri in processi infiammatori cronici dell'intestino quali:

- morbo di Krohn.
- Colite ulcerosa.

Tanto che spesso il numero di Coli presenti risulta un buon indice della evoluzione della patologia in corso.

LE SALMONELLE:

le salmonelle si dividono complessivamente in due grandi categorie:

- SALMONELLE MAGGIORI gruppo nel quale troviamo:

- salmonella tiphy.
- salmonella paratiphy a.
- salmonella paratiphy b.
- salmonella paratiphy c.

questi batteri provocano infezioni che se non curate adeguatamente possono portare anche alla morte del paziente.

- SALMONELLE MINORI che non divengono quasi mai letali.

LA SALMONELLA TIPHY:

Questo batterio penetra tramite il cavo ORALE per ingestione di cibo infetto, in particolare possiamo dire che:

- provoca una infezione LOCALE INTESTINALE di breve durata. A seguito della penetrazione attraverso la mucosa intestinale, la salmonella viene

dette CELLULE VERA che in sua presenza emolizzano.

attaccata dai macrofagi locali, ma assume la capacità di sopravvivere dentro di essi per muoversi in circolo.

- RAGGIUNGE I LINFONODI LOCALI veicolata dai macrofagi stessi.
- RAGGIUNGE IL SANGUE dove da vita ad una BATTERIEMIA TRANSITORIA, infatti il microorganismo tramite il circolo si porta:
 - nel fegato.
 - nella milza.
 - nel midollo.
 - nei linfonodi.dove si MOLTIPLICA.
- una volta moltiplicatasi la salmonella può fondamentalmente prendere due vie:
 - RITORNA NEL SANGUE dove genera una BATTERIEMIA PERSISTENTE molto pericolosa.
 - DAL FEGATO la salmonella:
 - può portarsi alle VIE BILIARI e tramite esse tornare nell'intestino dove può causare:
 - una seconda colonizzazione intestinale.
 - una eventuale aggressione delle placche di Peyer, portando quindi a:
 - emorragie intestinali.
 - perforazioni intestinali che possono anche portare ad un riversarsi di materiale fecale nel peritoneo e quindi PERITONITE.
 - inoltre direttamente nella CISTIFELLEA può provocare, con la sua azione patogena, una FLOGOSI CONSISTENTE che:
 - genera delle cicatrici dove non c'è vascolarizzazione.
 - rende la colecisti non raggiungibile dal sistema immunitario.la salmonella permane quindi in sede e il paziente diviene portatore sano.



Salmonelle tiphy nell'atto di invadere cellule umane in coltura, immagine al microscopio elettronico a scansione

LA FEBBRE TIFOIDE:

sicuramente la complicazione di maggiore gravità legata ad una infezione da salmonella typhi, si tratta di una febbre lenta progressiva accompagnata da diarrea, gastroenterite e sudorazione massiccia. Se non trattata tale patologia si sviluppa in quattro stadi della durata di una settimana ciascuno circa.

PRIMO STADIO:

la patologia si manifesta per la prima settimana con una febbre lenta accompagnata da:

- malessere generale.
- Bradicardia.
- Tosse.
- Epistassi in un quarto dei casi.
- Calo dei neutrofili circolanti.

In questo periodo il test di Widal risulta negativo.

SECONDO STADIO che presenta dei sintomi più specifici:

- febbre costante a 40°C che porta a volte a delirio o comunque molto spesso a comportamento nervoso.
- Bradicardia legata ad un calo del cardiac output avvertibile a livello di misurazione dei battiti di fatto come una insufficienza cardiaca.
- Suoni caratteristici intestinali alla ascultazione.
- Epatosplenomegalia.
- Feci a purea di piselli.

TERZO STADIO durante il quale si possono sviluppare complicazioni anche serie:

- emorragia a livello delle placche di Peyer.
- Eventuale perforazione intestinale con conseguente peritonite.
- Complicazioni sistemiche.

QUARTO STADIO durante il quale la febbre scende e il paziente diviene convalescente.

Tale patologia se non trattata porta alla morte nel 30% dei casi, tuttavia con un trattamento antibiotico basato su antibiotici di diversa categoria, le resistenze sono abbastanza rare, LA MORTALITÀ CALA ALL'1%.

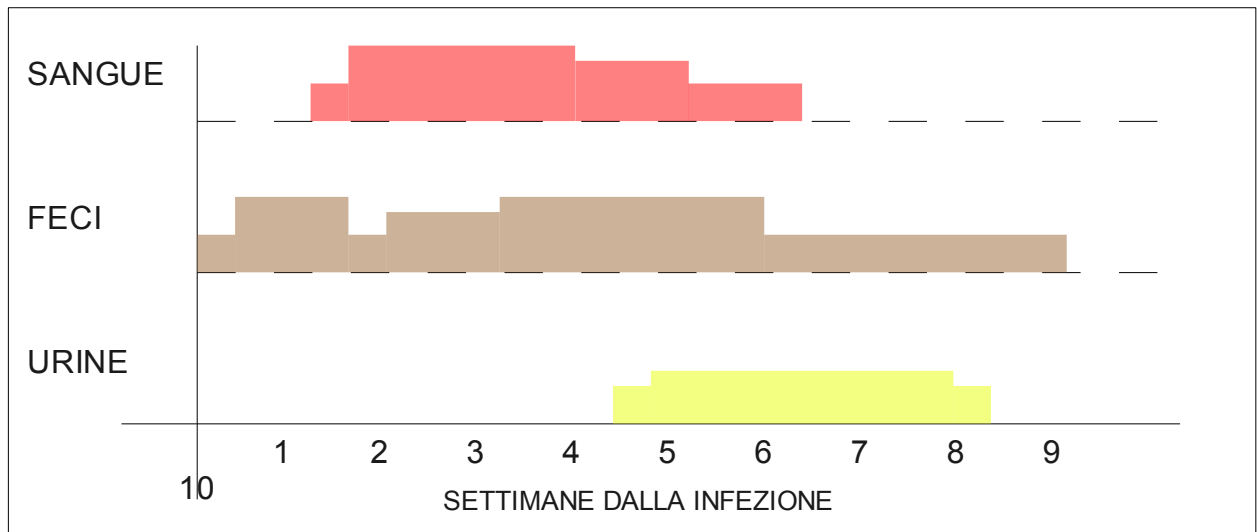
LE SALMONELLE PARATIPHY

Queste salmonelle fondamentalmente hanno un meccanismo patogenico con UNA SINTOMATOLOGIA SIMILE.

Sia le malattie da SALMONELLA TIPHY che da SALMONELLE PARATIPHY sono malattie ad evoluzione lenta e possono quindi essere interrotte in principio. Per quanto riguarda la diagnosi è fondamentale la scelta del materiale che si sottopone ad analisi, il batterio presenta infatti localizzazione differente a seconda dello stadio della malattia:

- in una prima fase, nella invasione dell'apparato gastroenterico, si trova nelle FECI.
- passa quindi in minima quantità nel SANGUE per poi portarsi ad alcuni organi come visto in precedenza.
- risale quindi la sua concentrazione PLASMATICA nel momento in cui l'infezione diviene SISTEMICA.
- Nelle fasi più avanzate della malattia si trova anche nelle urine.

Un ruolo fondamentale nel debellare questo tipo di patogeno è stato svolto dalle misure igieniche ma anche dalla presenza di un vaccino relativamente funzionante.

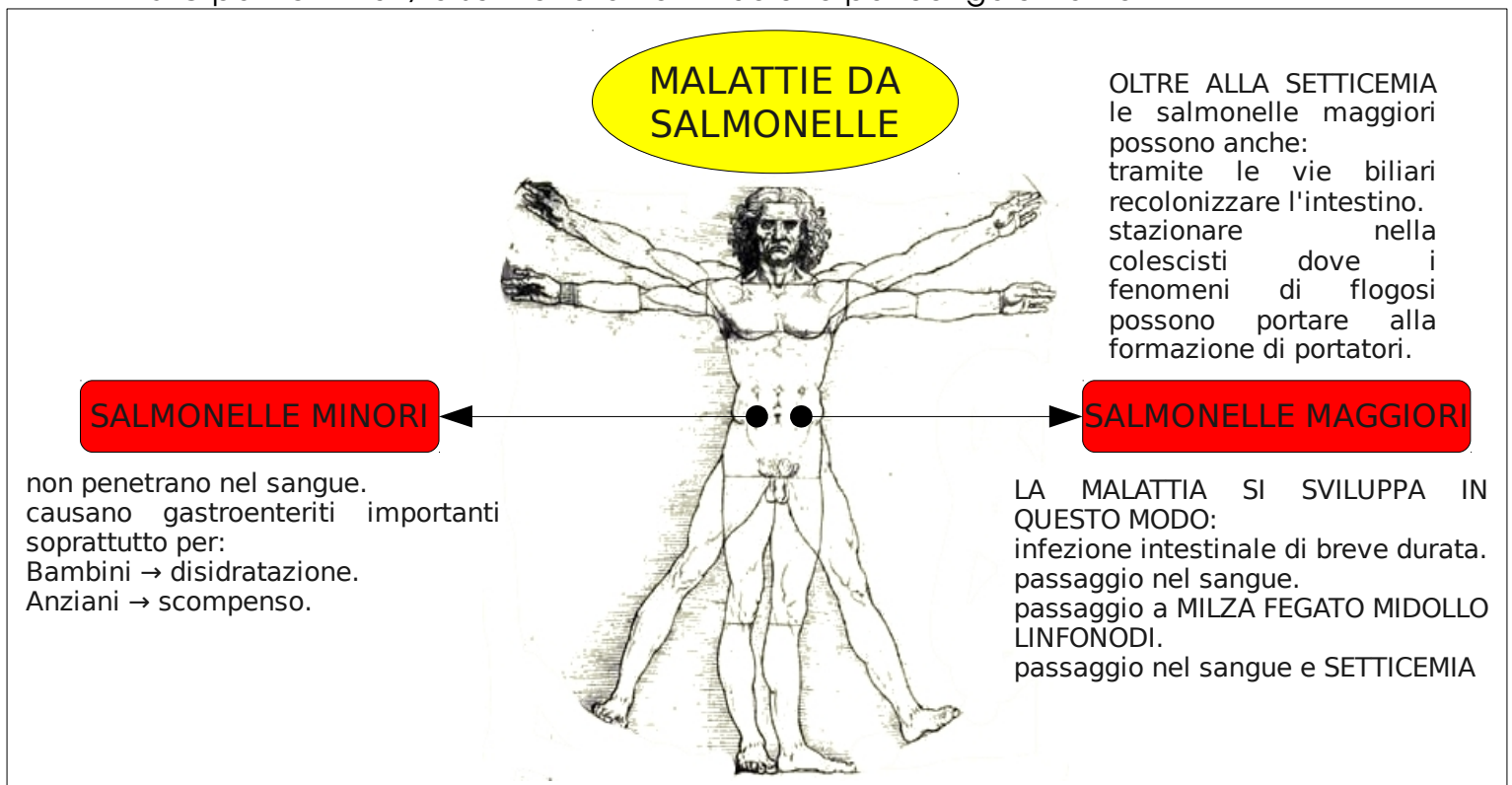


SALMONELLE MINORI:

Le salmonelle minori sono patogeni che aggrediscono il tratto intestinale provocando GASTROENTERITI anche GRAVI, MA TALI ORGANISMI NON SONO CAPACI DI PENETRARE NEL SANGUE e di provocare, quindi, SETTICEMIE. In ogni caso tali patologie:

- nel bambino possono portare a disidratazione e problemi nutrizionali.
- nell'anziano possono provocare scompensi elettrolitici.

Anche questo tipo di infezioni, analogamente a quelle da salmonelle maggiori, è causato da INGESTIONE DI ALIMENTI INFETTI, il veicolo principale di questo tipo di batteri è sicuramente l'uovo e soprattutto il suo guscio. Per quanto riguarda la eliminazione di questo patogeno dagli alimenti è necessario portare il campione a 75°C per 10 minuti, le salmonelle non muoiono per congelamento.



LE SHIGELLE:

Si tratta di batteri capaci di generare fenomeni di DISSENTERIA BACILLARE; nel nostro paese tali specie batteriche sono state debellate², si registrano tuttavia casi di importazione.

LA SHIGA TOXIN: si tratta di un proteina che:

- presenta strutturalmente:
 - una subunità B pentamerica che si lega al recettore globoside Gb3.
 - una subunità A che invece svolge l'azione intracellulare.
- BLOCCA FONDAMENTALMENTE LA SINTESI PROTEICA e in particolare agisce sull'RNA RIBOSOMIALE 28S eliminando una adenina dalla sua sequenza.

La TOSSINA DELLA SHIGELLA attacca, al contrario delle tossine del colera e dei coli normali, ma analogamente alle tossine di alcuni coli enteroemorragici, LA STRUTTURA DELLA MUCOSA INTESTINALE, a seguito di infezioni registriamo infatti:

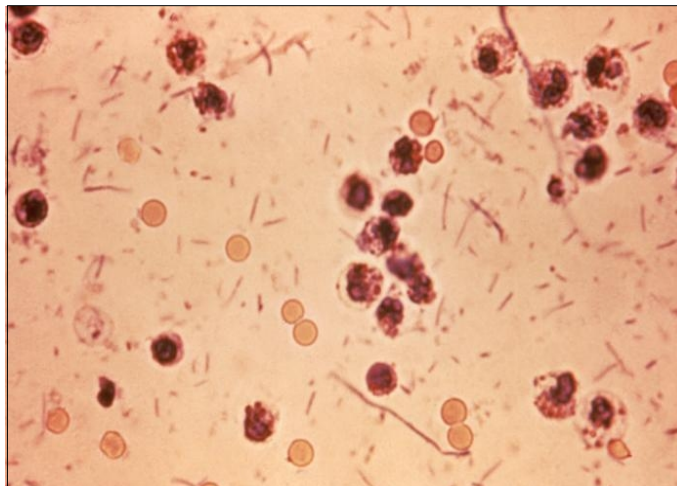
- lesioni della mucosa.
- feci miste a SANGUE e MATERIALE PURULENTO.
- Tenesmo³.
- Crampi addominali.

La tossina presenta effetti non solo a livello intestinale ma può portarsi anche nel circolo ematico secondo queste modalità:

- provoca un danno endoteliale.
- incrementa la liberazione di citochine.
- a seguito di queste azioni, aumenta la endotossinemia.
- la tossina genera fenomeni di tipo COAGULATIVO EMORRAGICI.

provocando infine una COLITE EMORRAGICA.

Si tratta di una COMPLICAZIONE tipica di questo tipo di infezioni, in ogni caso è importante sottolineare il fatto che NON È IL BATTERIO A PENETRARE LA MUCOSA ma UNICAMENTE LA SUA TOSSINA. Anche la produzione della Shiga toxin è associata alla HEMOLITIC UREMIC SYNDROME o HUS.



Microfotografia di shigellae presenti nelle feci di un individuo affetto da dissenteria bacillare.

immagine tratta da wikipedia

² si sono registrati dei casi unicamente nelle acque della laguna veneta.

³ Contrazione dolorosa e improvvisa dell'ano accompagnata da un bisogno impellente di defecare.

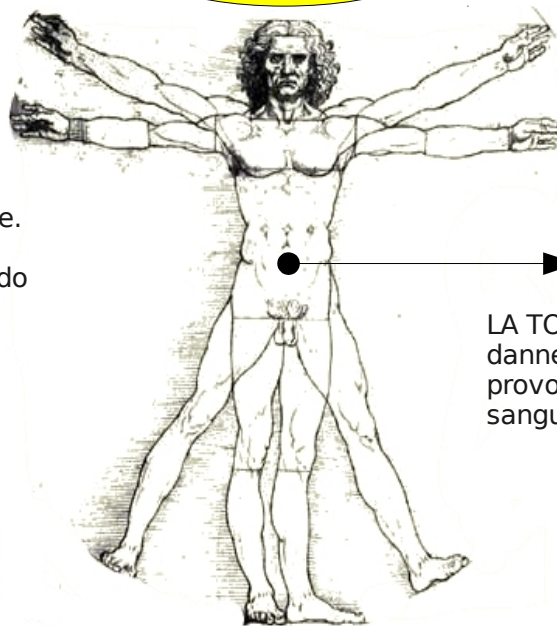
Le Shigelle sono classificabili in alcuni gruppi fondamentali quali:

- DYSSENTERIAE causa delle epidemie di dissenteria in quanto estremamente contagiosa.
- FLEXNERI responsabile di una grande parte delle gastroenteriti nei paesi del terzo mondo.
- SONNEI molto presenti nei paesi del primo e secondo mondo.

MALATTIE DA SHIGELLAE

SHIGA TOXIN

costituita di due subunità:
B pentamerica si lega al recettore.
A che agisce nella cellula.
blocca la sintesi proteica alterando
l'RNA ribosomiale 28s.



LA TOSSINA INOLTRE può:
provocare un danno
endoteliale.
incrementare la secrezione
di citochine.
incrementare la sua
concentrazione nel sangue.
generare fenomeni
COAGULATIVO EMORRAGICI
= COLITE EMORRAGICA.

DISSENTERIA BACILLARE

LA TOSSINA:
danneggia la mucosa intestinale.
provoca emissione di feci miste a
sangue e materiale purulento.

LA DIAGNOSI DI GASTROENTERITE:

generalmente in caso di gastroenterite si pensa ad una SALMONELLOSI e si inviano le feci al laboratorio, in laboratorio si agisce in questo modo:

- ARRICCHIMENTO DELLE FECI: si seminano le feci in un brodo di selenite e si lascia in incubazione per circa 24 ore. Il nostro obiettivo è quello di individuare dei batteri che nel campione, rispetto ad altre specie, possono essere presenti in quantità minime; dobbiamo quindi agire in questo modo:
 - si semina in UN TERRENO IN SELENITE DOVE LE SALMONELLE CRESCONO ma gli altri batteri non proliferano.
 - si porta il campione modificato in una piastra dove è molto più facile quindi individuare il batterio in questione.

terreni di arricchimento utili per coltivare questi batteri sono:

- terreno McConkey contiene anche lattosio oltre ai sali biliari e consente individuazione metabolica che le salmonelle che non sono capaci, al contrario di altri batteri, di metabolizzarlo.
- terreno S-S: si tratta di un terreno contenente SOLFATO DI FERRO FeSO_4 : le salmonelle, ma anche altri enterobatteri, producono ACIDO SOLFIDRICO che, reagendo con il solfato di ferro, forma SOLFURO FERROSO o FeS che

presenta colore nero e risulta chiaramente visibile nel campione.

- bismunto solfito si tratta di un terreno dove crescono solo salmonelle.



TSI O TRIPLE SUGAR IRON TEST:

Tramite questo tipo di test è possibile valutare la capacità di diversi batteri di:

metabolizzare per via fermentativa zuccheri: la via fermentativa produce acidi la cui presenza viene valutata tramite la presenza di un indicatore, il rosso fenolo che muta da rosso a giallo in presenza di acido.

Produrre acido solfidrico: l'acido solfidrico reagisce con il solfato di ferro producendo solfuro ferroso identificabile per la sua colorazione scura.

Da sinistra verso destra:

- 1-campione di controllo.
- 2-pseudomonas aeruginosa.
- 3-escherichia coli.
- 4-salmonella typhimurium.
- 5-shigella flexneri.

- IDENTIFICAZIONE si eseguono dei:
 - test biochimici come l'API.
 - agglutinazione che consente di identificare la singola specie di salmonella: le prove biochimiche non possono distinguere tra salmonelle maggiori e minori e tantomeno possono discernere tra i diversi batteri all'interno delle stesse classi, risulta quindi necessario eseguire dei test di agglutinazione specifici. Nello specifico si utilizzano due antigeni:
 - ANTIGENE O o LPS della salmonella: tale antigene è soggetto a fenomeni di MOSAICISMO o a mosaico:
 - UNA SALMONELLA PUÒ ESPRIMERE PIÙ ANTIGENI O.
 - UNO STESSO ANTIGENE O PUÒ ESSERE ESPRESSO DA PIÙ SPECIE DI SALMONELLE.
- questo fenomeno è utile in laboratorio paradossalmente: le salmonelle sono state classificate da due ricercatori, Kaufmann e White, e sappiamo oggi che TIPO DI ANTIGENI LE DIVERSE SPECIE POSSONO PRESENTARE. Oggi sappiamo che ciascuna specie presenta:
- un antigene DETTO MAGGIORE DI GRUPPO che consente di identificare DIVERSI GRUPPI DI SALMONELLE dove ad un gruppo corrisponde, appunto, ad un differente antigene di gruppo. A livello pratico si possono UTILIZZARE QUESTI ANTIGENI per IDENTIFICARE ANZITUTTO CHE TIPO DI GRUPPO HA INFETTATO IL PAZIENTE.
 - per determinare poi quale specie di salmonella è presente nel campione, si utilizzano ANTICORPI SPECIFICI per ciascuna salmonella.
- in ogni caso tramite l'individuazione del gruppo, si possono scremare numerosissime specie batteriche.
- ANTIGENE H o FLAGELLARE: si tratta di antigeni ai quali si ricorre nel momento in cui la identificazione tramite antigene O non sia sufficiente.
 - ANTIGENE CAPSULARE Vi.

DIAGNOSI INDIRETTE TRAMITE REAZIONE DI WIDAL:

Si tratta di un sistema che sfrutta una reazione di agglutinazione nella ricerca di anticorpi contro salmonelle, in particolare si possono cercare ANTICORPI CONTRO LE SALMONELLE MAGGIORI. Tale test si esegue in questo modo:

- si prepara un certo numero di provette contenenti siero diluito in base due.
- ad ogni provetta si aggiunge una data quantità di SALMONELLA. La agglutinazione come sappiamo non distingue tra IgG e IgM, sarebbe quindi necessario eseguire due prelievi distinti per valutare il titolo anticorpale in momenti differenti (sieroconversione): il metodo Widal consente di eliminare, anche se non è certa la sua efficacia, questo problema. Si esegue il test in questo modo:
 - L'ANTIGENE O non essendo un buon antigene, dovrebbe stimolare le cellule B a produrre prevalentemente IgM.
 - L'ANTIGENE H essendo un antigene flagellare proteico, dovrebbe far produrre invece prevalentemente IgG.

vengono preparate quindi due sequenze di provette e:

- in una si inserisce la SALMONELLA CHE ESPONE UNICAMENTE O e CHE REAGIRÀ, quindi, IN CASO DI INFEZIONE IN ATTO.
 - nella seconda si inserisce la SALMONELLA CHE ESPONE UNICAMENTE H e CHE REAGIRÀ IN CASO DI INFEZIONE PREGRESSA O IN VIA DI RISOLUZIONE.
- naturalmente si valuta il rapporto tra i due tipi di Ig e si considera quale sia il titolo più significativo.

BATTERI GRAM NEGATIVI NON FERMENTANTI

si tratta di batteri che strutturalmente presentano:

- forma di bastoncini.
- metabolismo aerobio stretto: sono incapaci di fermentare.
- sono microorganismi ambientali.
- sono generalmente mobili e presentano numerosi flagelli.

Questi microorganismi sono capaci di provocare malattie anche gravi.

LA IDENTIFICAZIONE DI UN BATTERIO FERMENTANTE è relativamente facile, è sufficiente eseguire un test di questo tipo:

- si degassifica un liquido di coltura tramite riscaldamento.
- si preparano due provette:
 - una sigillata con olio di vaselina o con un olio isolante rispetto ai gas atmosferici.
 - una non tappata dove il gas può diffondere.
- si seminano i batteri.

nel momento in cui i batteri sopravvivono nel campione sigillato, significa che sono in grado di fermentare e possono sopravvivere in condizioni anaerobie.

Alcuni esempi di batteri GRAM NEGATIVI NON FERMENTANTI sono:

- pseudomonas.
- Burkholderia.
- Stenotrophomonas.
- Acinobacter.
- Alcaligenes.
- Achromobacter.

LO PSEUDOMONAS AERUGINOSA:

sicuramente il più importante e frequente dal punto di vista clinico è lo PSEUDOMONAS AERUGINOSA, si tratta di un batterio:

- spesso coinvolto in infezioni gravi.
- presenta resistenze antibiotiche notevoli che possono generare notevoli difficoltà nel trattamento.

Si tratta di un patogeno opportunista, non causa infezione se non gli viene data la possibilità:

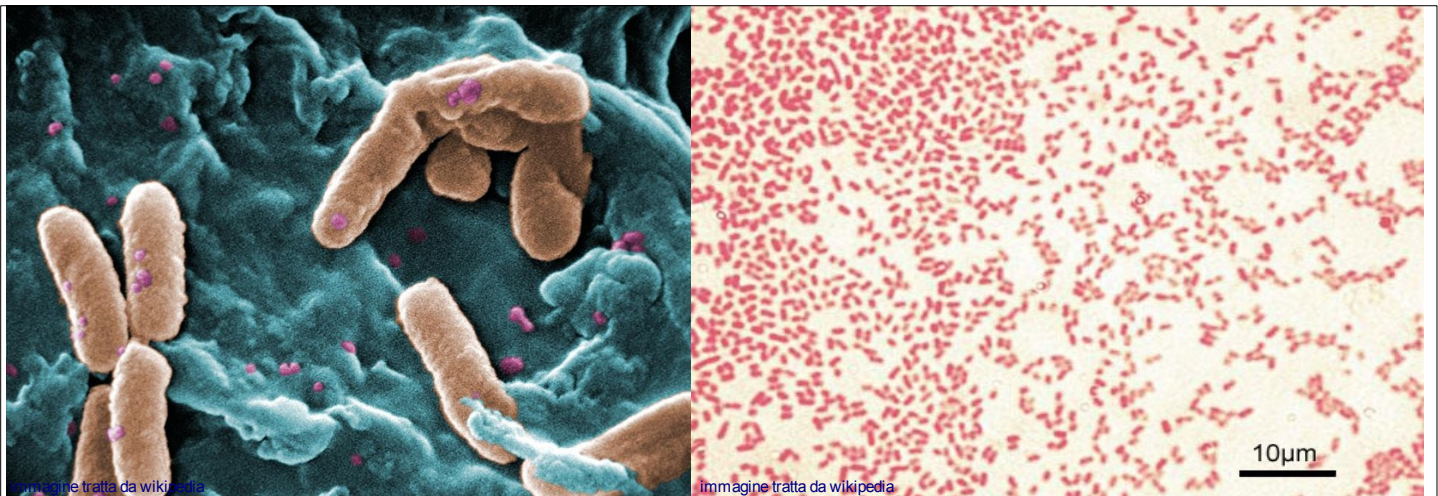
- viene definito spesso un PATOGENO NOSOCOMIALE in quanto le sue infezioni si sviluppano a livello ospedaliero dove i pazienti sono indeboliti e malati.
- è molto diffuso su suolo e acqua.
- ha bisogno di ambienti umidi, nella profilassi ospedaliera vanno eseguiti controlli precisi¹.
- È molto poco esigente dal punto di vista nutrizionale.
- È molto resistente alla maggior parte degli antibiotici e disinfettanti.

¹ Soprattutto è necessario porre la massima attenzione a lavandini, asciugamani e ambienti umidi in generale.

LA FOLLICOLITE:

lo *pseudomonas aeruginosa* è uno dei principali responsabili della follicolite: si tratta di una infezione pruginosa del follicolo pilifero della durata di 7-10 giorni. Normalmente si risolve da sola lasciando una lesione iperpigmentata della durata di un mese circa; in alcuni casi possono essere prescritti antibiotici: la lesione può infatti causare ascessi.

Per comprendere quanto questo patogeno sia resistente ricordiamo che lo *pseudomonas* è capace senza problemi di crescere nel liquido disinfettante utilizzato per le lenti a contatto, soprattutto se il disinfettante non è adatto: il batterio addirittura catabolizza il disinfettante e diviene un patogeno pericoloso per la congiuntiva e l'occhio in generale².



PSEUDOMONAS AERUGINOSA alla osservazione con microscopio elettronico a scansione a sinistra, e al microscopio ottico a destra.

PATOLOGIE DA PSEUDOMONAS AERUGINOSA:

quadri patologici legati a *pseudomonas aeruginosa* sono spesso:

- INFEZIONI DELLA FERITA CHIRURGICA E DELL'USTIONE: si tratta della opportunità più frequente a livello ospedaliero rispetto a infezioni di natura batterica. Lo *pseudomonas* assieme allo *staphylococcus aureus* è sicuramente il patogeno che più di frequente causa problemi di questo tipo.
- INFEZIONI URINARIE soprattutto in ambiente ospedaliero dove diviene uno dei patogeni più tipici relativamente a questo tipo di patologie.
- INFEZIONI RESPIRATORIE:
 - INFEZIONI POLMONARI DEL SOGGETTO AFFETTO DA FIBROSI CISTICA: si tratta del caso più frequente in assoluto; come sappiamo questo tipo di patogeni permangono a livello polmonare per la presenza di un muco particolarmente denso tipico delle persone affette da fibrosi cistica.
 - BRONCOPOLMONITI NECROTIZZANTI.
 - TRACHEOBRONCHIOLITI.
- INFEZIONI AURICOLARI:

² si pensa di poter utilizzare questo tipo di batterio per ripulire le acque marine dall'inquinamento da petrolio.

Giordano Perin; microbiologia speciale 3: i batteri gram negativi non fermentanti

- otite cronica media o esterna.
- otite esterna maligna.
- INFEZIONI OCULARI che possono portare anche alla perdita dell'occhio.
- NATURALMENTE PUÒ ENTRARE NEL SANGUE e portare eventualmente a:
 - SETTICEMIA.
 - ENDOCARDITE.

LO PSEUDOMONAS presenta numerosi fattori di virulenza, tale batterio risulta infatti:

- molto adesivo per la presenza di pili.
- capsulato.
- capace di produrre numerose tossine:
 - esotossina A che ADP ribosila proteine EF2.
 - leucocidina.
- produce anche numerosi enzimi:
 - elastasi.
 - fosfolipasi C.
 - esoenzima S che ADP ribosila proteine differenti da EF2.
 - proteasi.

LA ELASTASI:

Si tratta di un enzima che agisce in modi differenti in differenti tessuti:

- attivando delle METALLO-PROTEASI presenti nella matrice extracellulare delle cellule corneali e da esse prodotte, degrada diverse categorie di collagene:
 - IV.
 - V.
 - VII.

si tratta del fattore che rende lo PSEUDOMONAS particolarmente pericoloso a livello della cornea.

- la proteina C3b.
- immunoglobuline, in particolare IgG e IgA.
- diverse sieroproteine.

le infezioni causate da questo tipo di batterio oggi sono prevalentemente OCCASIONALI: generalmente chi viene aggredito da questo microorganismo presenta FATTORI PREDISPONENTI CONSIDEREVOLI.

INFEZIONI DELLA FERITA CHIRURGICA E DA USTIONI sono generalmente date da:

- streptococcus aureus.
- pseudomonas.

LA CAPSULA DELLO PSEUDOMONAS AERUGINOSA:

Lo pseudomonas presenta una capsula importante dal punto di vista patogenico costituita di ALGINATO, un polisaccaride molto importante; si tratta di un fattore fondamentale per la sua capacità virulenta rispetto soprattutto ai malati di fibrosi cistica. La capsula è un fattore inducibile rispetto a fattori di natura ambientale, nello pseudomonas è fondamentale rispetto alla capacità di questo tipo di batterio di formare colonie. Possiamo distinguere quindi:

- CEPPI NON MUCOIDI.

Giordano Perin; microbiologia speciale 3: i batteri gram negativi non fermentanti

- **CEPPI MUCOIDI.**

I ceppi NON MUCOIDI se posti in date condizioni, dove la capsula può essere utile, POSSONO, come accennato in precedenza, COMINCIARE A PRODURRE ALGINATO E QUINDI FORMARE LA CAPSULA BATTERICA; a livello del tessuto bronchiale e polmonare si verifica un fenomeno di questo tipo:

- il polmone del fibrocistico presenta elevate concentrazioni di sali come sodio cloro e potassio.
- tali ioni promuovono la espressione del gene ALG-D.
- il gene ALG-D produce ALGINATO e stimola la FORMAZIONE DELLA CAPSULA.

Tali batteri sono capaci di produrre una serie di pigmenti il cui ruolo patogenico non è chiaro al momento:

- PIOCIANINA di colore blu.
- PIOVERDINA di colore verde fluorescente.
- PIORUBINA di colore rosso scuro.
- PIOMELANINA di colore nero.



I PROCESSI DI IDENTIFICAZIONE DELLO PSEUDOMONAS:

la coltivazione di questo tipo di batteri non è un problema, il microorganismo in questione cresce infatti rapidamente in condizioni anche relativamente avverse. Alla osservazione le colonie di questo tipo di microorganismi appaiono come:

- dimensioni e morfologia molto simili tra loro.
- presentano una pigmentazione chiaramente dipendente dai diversi tipi di pigmenti sintetizzati.
- presentano capacità di emolisi in AS.
- presentano un odore fruttato o da sapone da poco prezzo.
- non fermentanti.
- crescono a 42°C.
- sono ossidasi negative.

tali caratteristiche non rendono quindi difficile la identificazione della colonia.

LE FARMACORESISTENZE DELLO PSEUDOMONAS:

le farmaco resistenze di questo tipo di microorganismi possono essere molto significative dal punto di vista clinico tanto che spesso il COLISTIN, una polimixina, risulta l'unico farmaco utilizzabile. Tale farmaco agisce a livello delle membrane citoplasmatiche e presenta quindi una elevata tossicità.

la estrema resistenza di questo tipo di batterio a diversi fattori di stress è legata a:

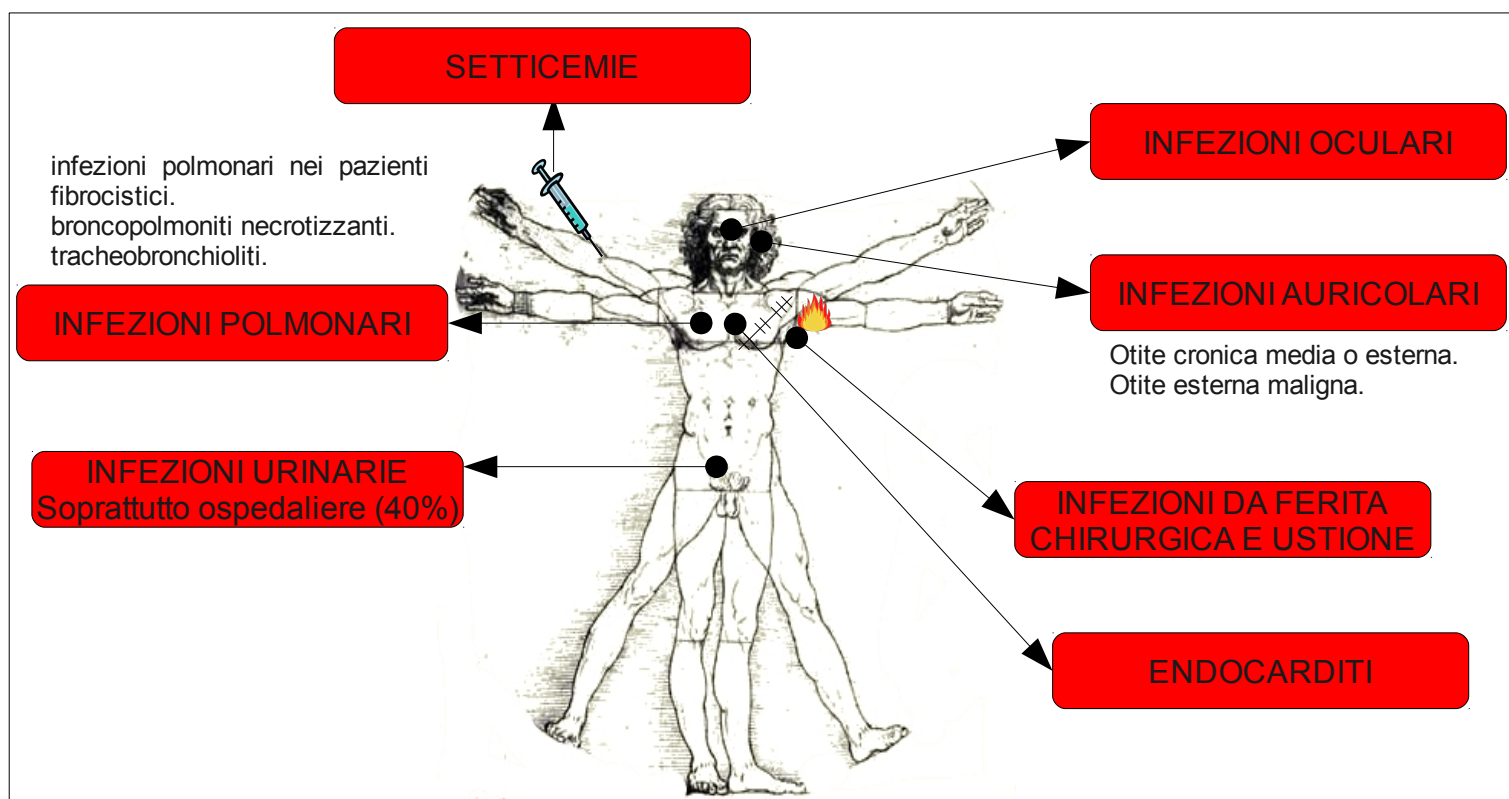
- presenza di porine strutturalmente molto ristrette.
- questi microorganismi vivono spesso in ospedale: sono quindi andati incontro a processi di selezione molto significativi che hanno stimolato molto questo tipo di processi.

Giordano Perin; microbiologia speciale 3: i batteri gram negativi non fermentanti

- sono microorganismi molto VERSATILI sia dal punto di vista delle ricombinazioni geniche, sia dal punto di vista della capacità di acquisire tratti genici da altri batteri anche di specie differenti.

un esempio tipico è lo sviluppo del VIM: si tratta di un gene che codifica per una betalattamasi, enzima capace di degradare uno degli anelli strutturali della penicillina e derivati della stessa. La proteina codificata da VIM agisce su QUASI TUTTI I BETA LATTAMICI e il tratto è diffuso a una grande parte dei ceppi di pseudomonas.

tale batterio si trova anche SU PIAGHE DA DECUBITO di anziani allettati: si tratta di



soggetti a rischio in quanto chiaramente deboli.

BURKHOLDERIA CEPACIA:

si tratta di un microorganismo relativamente poco interessante dal punto di vista medico, ma importante dal punto di vista agricolo, si tratta infatti del batterio responsabile della marciscenza delle cipolle; a livello clinico questo microorganismo può creare problemi molto consistenti soprattutto nel bambino e in generale nel paziente AFFETTO DA FIBROSI CISTICA, in particolare in relazione a INFEZIONI DI NATURA POLMONARE, possiamo dire che fondamentalmente:

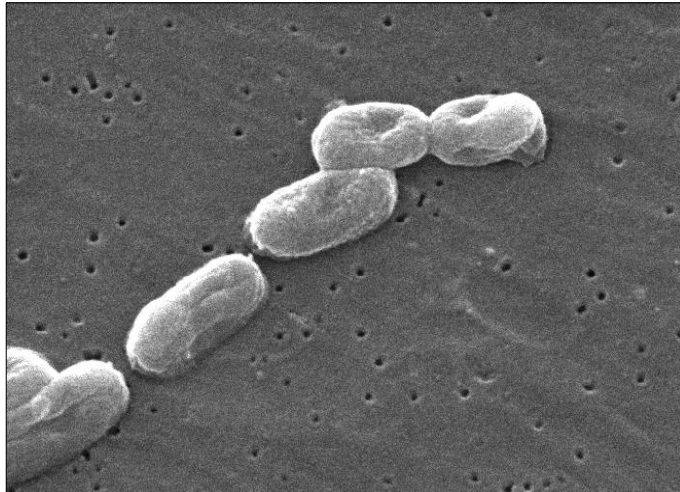
- inizialmente le infezioni polmonari di fibrocistici sono causate da pseudomonas aeruginosa e stafilococcus aureus.
- a seguito di questo tipo di infezioni possiamo trovare nei campioni anche LA BURKHOLDERIA CEPACIA.

È opinione diffusa che LA BURKHOLDERIA SIA SEMPLICEMENTE UN FATTORE DI NATURA PREDITIVA rispetto all'ESITO NEGATIVO DELLA INFEZIONE POLMONARE: questo è

Giordano Perin; microbiologia speciale 3: i batteri gram negativi non fermentanti

dovuto al fatto che questo batterio non cresce in un polmone sano, ma unicamente in un polmone compromesso.

Strutturalmente anche LA BURKODELIA, analogamente allo pseudomonas aeruginosa, è capace di SINTETIZZARE UNA CAPSULA POLISACCARIDICA e di generare quindi colonie di natura MUCOIDE.



Burkholderia cepacia al microscopio elettronico a scansione.

immagine tratta da wikipedia

TERAPIA PER INFEZIONI POLMONARI DA BURKHOLDERIA CEPACIA:

recentemente si è scoperto che gran parte della pericolosità e delle farmacoresistenze di questo microorganismo risiede proprio nella sua capacità di produrre un particolare componente della capsula polisaccaridica: 4AMMINO 4DEOSSI L-ARABINOSIO, inibitori della produzione di tale molecola potrebbero essere efficacemente utilizzati a fianco di antibiotici nel trattamento di pazienti fibrocistici affetti da Burkolderia.

I BACILLI

con il termine bacillus si intende una famiglia molto numerosa di batteri, in particolare si tratta di:

- microorganismi ambientali: sono estremamente diffusi nell'ambiente; non creano praticamente mai problemi.
- Sono bastoncini gram positivi.
- Sono sporigeni.
- Catalasi positivi.
- Immobili.
- Aerobi, formano spore in anaerobiosi.

La parete cellulare di questi microorganismi è formata di ACIDO TEICOICO E TEICURONICO, per quanto riguarda il bacillus anthracis questa risulta ricca di ACIDO GLUTAMICO.

GLI UNICI DUE BACILLI PERICOLOSI SONO:

- bacillus ANTHRACIS.
- bacillus CEREUS.

BACILLUS ANTHRACIS:

si tratta di bastoncini gram positivi sporigeni come tutti gli altri bacilli, inoltre si presentano:

- CAPSULATI.
- CAPACI DI PRODURRE UNA TOSSINA molto pericolosa.

possiamo quindi distinguere tre tipi di antrace:

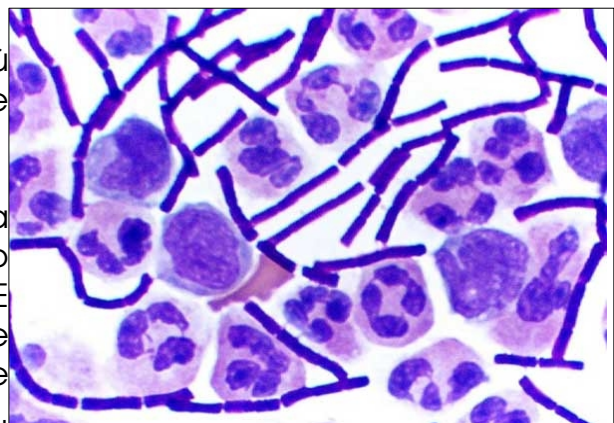
- ANTRACE CUTANEO
- ANTRACE INALATORIO il più pericoloso dal punto di vista clinico e bioterroristico.
- ANTRACE DA INGESTIONE.

Fondamentalmente l'antrace è una malattia che colpisce gli ANIMALI, l'uomo viene colpito in modo OCCASIONALE soprattutto nel momento in cui il paziente entri in contatto con materiale di origine animale, come pelle o lana, infetto.

Fondamentalmente la eziologia di diffusione più diffusa è la seguente:

- L'ANIMALE, generalmente un grande erbivoro, viene infettato dal batterio.
- L'ANIMALE MUORE.
- La carcassa viene lasciata nell'ambiente e lo contamina, sia a livello di vegetazione sia a livello di altri animali carnivori che si cibano della carcassa.
- Con la diffusione, la patologia può colpire anche l'uomo.

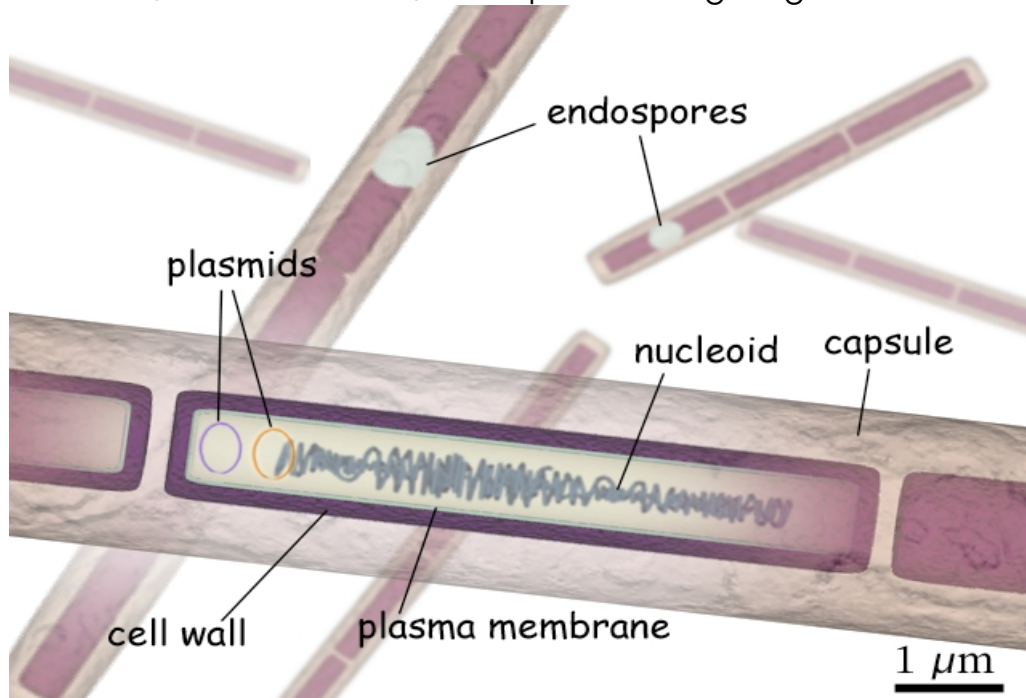
Fondamentalmente nel nostro paese la malattia è stata debellata in quanto viene la patologia RICONOSCIUTA A LIVELLO VETERINARIO e NON VIENE LASCIATA LA



Campione di LIQUOR infetto ricco di bacillus anthracis.

CARCARSA DELL'ANIMALE MORTO NELL'AMBIENTE.

Per quanto riguarda le forme umane sicuramente la forma INALATORIA è la più grave in quanto diffonde facilmente ed è molto aggressiva; IL TRATTAMENTO deve essere immediato, in caso di ritardi, non è possibile la guarigione.



L'ANTRACE CUTANEO:

si manifesta fondamentalmente come una lesione, tale patologia:

- richiede la presenza di una lesione cutanea preesistente per poter divenire infettiva.
- Si verificano circa 2000 casi all'anno, negli stati uniti, negli ultimi cinquanta anni, ci sono stati 224 casi.
- una infezione in Iran ha portato nel 1945 alla morte di un milione di pecore.
- Nello Zimbabwe dal '79 all'89 una pandemia uccise 10000 persone.

A seguito della infezione tramite ferita aperta, la patologia si sviluppa in questo modo:

- SI FORMA UNA MACULA PRUGINOSA a livello della lesione.
- SI FORMA UNA PAPULA.
- La papula evolve ad ULCERA.
- COMPARSA DI VESCICOLE: lo sviluppo della vescicola è legato al fatto che il batterio produce una tossina che stimola l'accumulo di liquido a livello della lesione che risulta quindi molto rilevata.
- ESCARA: si tratta di una lesione di natura NECROTICA.
- CADUTA DELL'ESCARA, si va verso la guarigione.

Il tutto si sviluppa in circa 10-15 giorni.



A VOLTE SI HANNO EVOLUZIONI DI NATURA SISTEMICA ma sono relativamente rare.

ANTRACE INALATORIO:

L'ultimo caso risale al 1978, sostanzialmente tali malattie sono state poco studiate in quanto la scomparsa non ha dato fonti o motivi di studio. Ricordiamo che:

- l'89% dei casi affetti sono stati mortali.
- la patologia riguardava soprattutto lavoratori della lana: la lana infetta soprattutto in certi laboratori, contaminava l'aria esponendo una grande quantità di persone alla infezione.

INCIDENTE DI SVERDLOVSK NEL 1979:

Tale malattia riemerse nel 1979 in Russia in relazione ad un evento particolare avvenuto a Sverdlovsk dove a seguito di una piccola epidemia si ebbero:

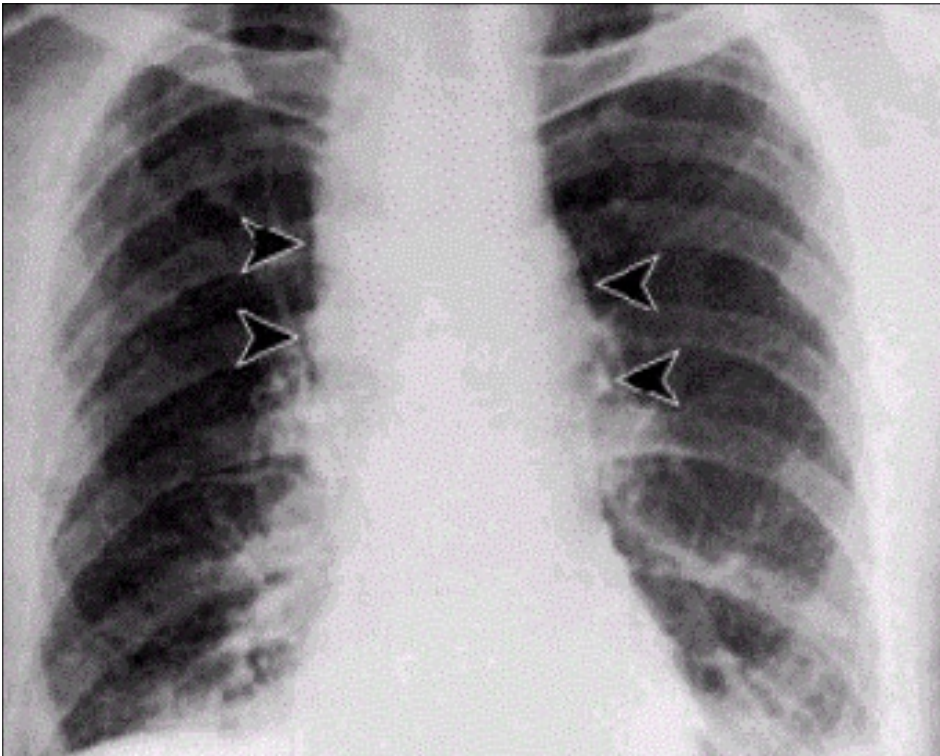
- 79 casi.
- 68 decessi.

Tale epidemia fu causata da un incidente di laboratorio legato alla ricerca su armi biologiche: 79 tra scienziati, militari e civili vennero infettati. L'incidente divenne noto anche negli stati uniti dove sembra che anche attualmente a Bethesda si eseguano ricerche su questo batterio.

LA MALATTIA si sviluppa in due stadi:

- PRIMO STADIO caratterizzato da:
 - febbre.
 - dispnea.
 - cefalea.

- dolore toracico.
- dolore addominale.
- SECONDO STADIO che si presenta invece in questo modo:
 - linfadenopatia massiva.
 - dilatazione del mediastino.
 - insufficienza respiratoria.
 - sudorazione profusa.
 - shock.
 - meningite emorragica.



Ampliamento mediastinico a seguito di infezione da BACILLUS ANTRACIS.

immagine tratta da wikipedia

A livello patologico il batterio viene inalato in forma generalmente di SPORA:

- La spora viene INALATA, l'INFEZIONE PUÒ ESSERE BLOCCATA NEL CASO IN CUI I MACROFAGI LA RICONOSCANO SUBITO e la FAGOCITINO NEUTRALIZZANDOLA, ma questo avviene, purtroppo, raramente.
- Il batterio si porta a livello dei LINFONODI MEDIASTINICI.
- GERMINA in essi.
- Passa nel sangue.
- si moltiplica rapidamente.
- PRODUCE UNA TOSSINA molto pericolosa che DI FATTO È LA CAUSA DELLA MORTE DEL PAZIENTE.

LA TOSSINA DELL'ANTRACE:

si tratta di un complesso tossinico organizzato in tre parti:

- antigene protettivo o PA che veicola il fattore letale.
- fattore letale o LF che penetra nella cellula.
- fattore endemigeno o EF che genera numerose reazioni a livello dell'organismo infettato.

PORZIONE BINDING O PROTETTIVA:

in tutte le tossine esiste una porzione effettrice e una porzione protettiva, la porzione binding o protettiva è in questo caso:

- fondamentale.
- di derivazione PLASMIDICA: è possibile far perdere al batterio tale componente genetica rendendolo inefficace. Risulta a questo punto utilizzabile come vaccino.
- È un antigene proteico di circa 83Kd.
- La sua funzione si estrinseca in questo modo:
 - si lega ad un recettore sulla membrana cellulare.
 - Viene riconosciuto da una proteasi che lo degrada ad un frammento di 63Kd.
 - Si formano dei complessi EPTAMERICI che vengono ENDOCITATI.

IN QUESTO MODO IL FATTORE PROTETTIVO VEICOLA LA TOSSINA NELLA CELLULA.

IL FATTORE ENDEMIENO:

si tratta di un fattore ad attività disregolativa rispetto alla attività cellulare, in particolare:

- provoca una disregolazione della attività del cAMP.
- genera un aumento citoplasmatico delle concentrazioni di questa molecola.
- regola le pompe intracellulari.

provocando in questo modo fenomeni EDEMICI DIFFUSI.

IL FATTORE LETALE

- uccide macrofagi e monociti.
- si pensa stimoli la produzione di citochine quali:
 - TNF alfa.
 - INTERLEUCHINA 1beta.

La cui azione proinfiammatoria genera lo shock.

ANTRACE COME ARMA TERRORISTICA:

ad oggi circa 17 paesi possiedono nei loro arsenali questo tipo di arma, fondamentalmente per quanto riguarda la possibilità di procurarsi un campione di questo tipo di batteri:

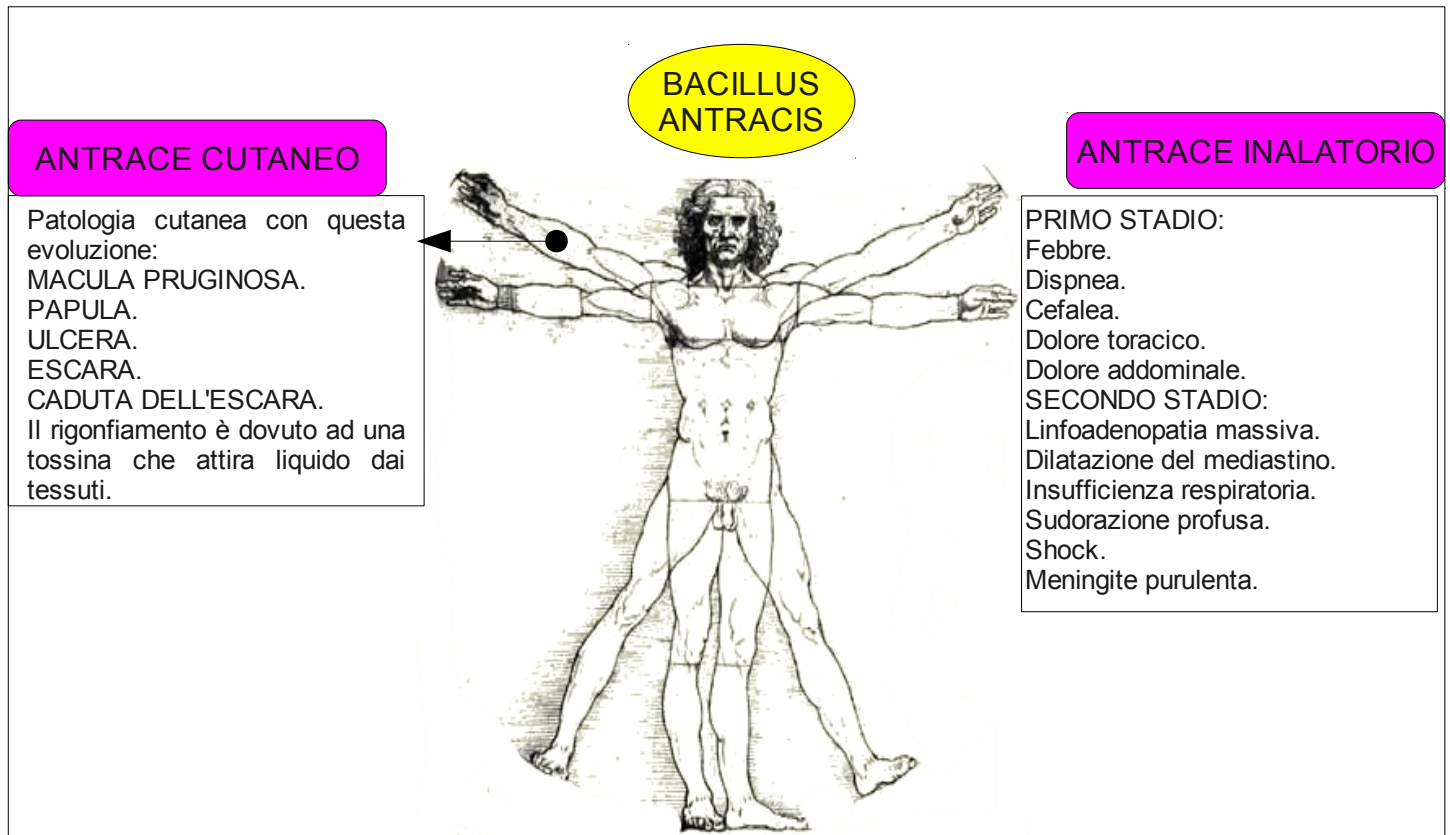
- qualche anno fa una associazione forniva legalmente colture di antracis, ovviamente previa identificazione del ricercatore; tale associazione, ATCC, ad oggi non vende più questo tipo di batterio.
- Oggi campioni di antracis si possono forse trovare in laboratori di ricerca appositi.

il problema per quanto riguarda tale bacillo non è la estrazione dall'animale o la coltivazione, ma:

- PRODUZIONE DI SPORE.
- INGEGNERIZZAZIONE NECESSARIA PER RENDERLE VOLATILI e quindi pericolose.

ANTRACE DA INGESTIONE:

vi furono diversi casi legati alla ingestione di carni di animali malati; si tratta in ogni caso di una patologia molto meno grave dell'antrace inalatorio.



Il trattamento per questo tipo di infezioni, eccetto ovviamente l'antrace inalatorio, è un semplice beta lattamico. Non è nota la causa precisa di questo, ma si sa che i polifenoli contenuti nel tè hanno la capacità di inibire notevolmente la attività di questo batterio e della sua tossina, cosa che non vale per le spore per esempio: la mancata azione in vivo di questo tipo di composti sarebbe legata al fatto che in vivo il bacillo e il polifenolo difficilmente possono entrare in contatto. Lo scopritore del vaccino contro l'antrace e pioniere della sperimentazione dello stesso in veterinaria fu Louis Pasteur.

BACILLUS CEREUS:

Si tratta di un microorganismo abbastanza diffuso, può contaminare cibo e produrre due patologie dell'apparato gastroenterico fondamentalmente, questo è dovuto alla presenza di due possibili tossine:

- **EMETICA** che provoca vomito, nausea e crampi addominali; tale tossina risulta:
 - veicolata dal RISO.
 - Presenta una incubazione MINORE DI 6 ORE (in media di due ore).
 - Presenta un effetto di durata da 8 a 10 ore (in media di 9 ore).
 - Risulta termostabile.
- **DIARROICA** che provoca diarrea nausea e crampi addominali; tale tossina:
 - veicolata da CARNE E VERDURA.

- Presenta un periodo di incubazione di più di 6 ore (in media di 9).
- ha un effetto della durata di circa 20-36 ore (in media 24).
- risulta labile al calore.

la patologia generata da questo tipo di tossine non è grave in soggetti sani, diviene pericolosa nel momento in cui COLPISCA INDIVIDUI CON FORTI FATTORI PREDISponenti come anziani soprattutto.

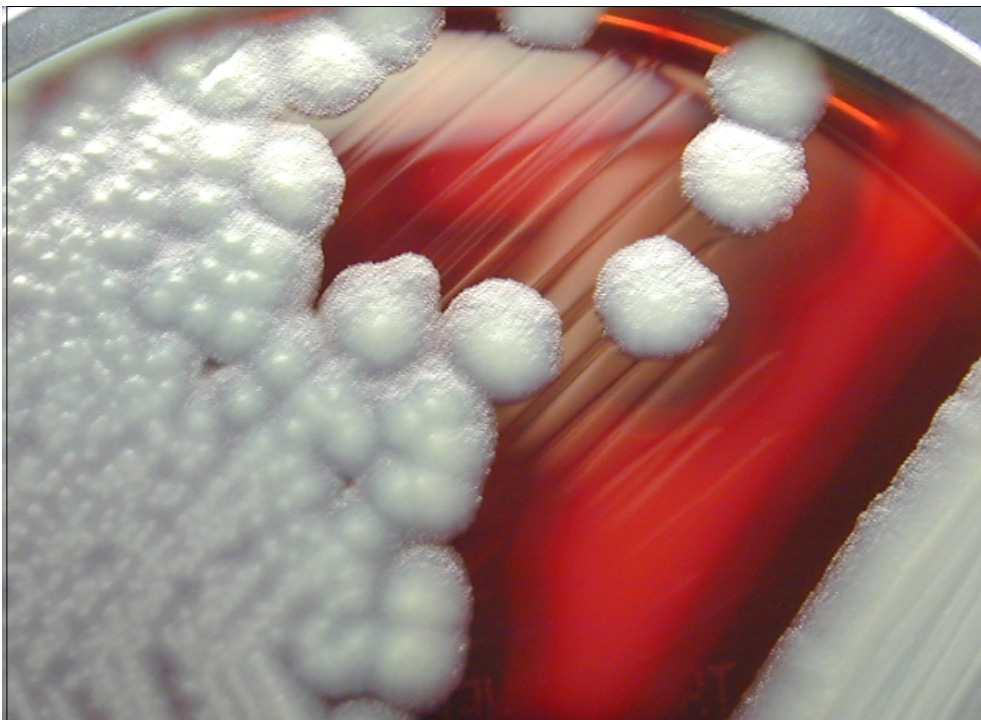
Un tempo si pensava che la diversità dei due quadri patologici fosse associata a UN DIVERSO TIMING DI PRODUZIONE DELLE TOSSINE mentre oggi si sa che la patologia GASTRICA EMETICA è causata da una tossina detta CEREULIDE, si tratta di un peptide particolare:

- non è presente nel normale genoma del batterio come avviene invece per le altre tossine.
- Peptide dodecaciclico.
- Si pensa AGISCA:
 - ATTIVANDO LA SEROTONINA A LIVELLO GASTRICO.
 - INCREMENTANDO LE EFFERENZE VAGALI.

Risulta responsabile di circa il 2-5% delle patologie gastrointestinali

Questo bacillo risulta inoltre coinvolto in:

- cheratiti.
- Fasciti necrotizzanti, anche se è molto meno aggressivo dello streptococcus pyogenes.



Colonie di bacillus cereus in coltura con sangue di pecora su piatto di Agar.

immagine tratta da wikipedia

IDENTIFICAZIONE DEL BACILLUS:

i batteri del genere BACILLUS sono FACILMENTE IDENTIFICABILI:

- le colonie sono organizzate in modo molto impilato e assumono una conformazione peculiare a caput medusæ.
- sono capsulati e la capsula risulta chiaramente individuabile.

IDENTIFICAZIONE DEL BACILLUS ANTRACIS:

nel momento stesso in cui un campione veniva portato al laboratorio VENIVA POSTO IN AUTOCLAVE, una volta eliminato il batterio potenzialmente letale, si ANDAVA ALLA RICERCA DI FRAMMENTI GENETICI IDENTIFICATIVI specifici del batterio.

LE BRUCELLE:

le brucelle sono un genere di batterio all'interno del quale individuiamo, ovviamente, diverse specie; in linea generale si tratta di batteri:

- coccobacilli, bastoncini molto corti.
- gram negativi.
- immobili.
- asporigeni.
- spesso privi di capsula.
- Anaerobi.
- Ureasi positivi.

esistono diverse specie di brucelle, in particolare ricordiamo:

- brucella MELITENSIS che infetta gli ovini.
- brucella ABORTUS che infetta i bovini.
- brucella SUIS che infetta i suini.
- brucella CANIS che infetta i cani.

le brucellosi sono ZOONOSI: l'uomo è un ospite assolutamente occasionale. Oltre alle specie citate, esistono molte altre specie infettive per animali molto diversi ma che risultano assolutamente non pericolose per l'uomo.

SI TRATTA DI PARASSITI INTRACELLULARI FACOLTATIVI.

LE INFEZIONI:

Le infezioni da brucella arrivano all'uomo, tale patologia può essere trasmessa:

- direttamente soprattutto per quanto riguarda personale a stretto contatto con animali come veterinari e allevatori.
- per via alimentare, in particolare:
 - tramite latte.
 - tramite prodotti caseari freschi: i prodotti stagionati non trasmettono la brucella.

LA BRUCELLOSI NEGLI ANIMALI:

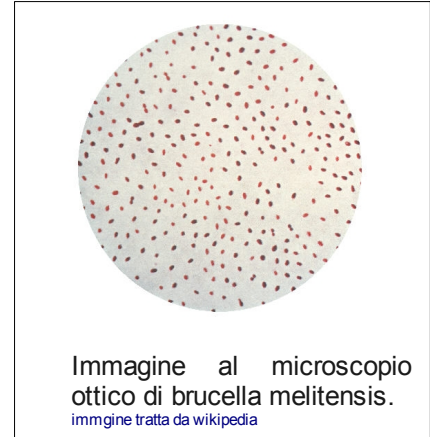
la brucella si localizza nel bovino e nell'ovino; nel bovino in particolare:

- nella ghiandola mammaria e viene quindi liberata nel latte.
- negli annessi placentari soprattutto nel bovino, mai nell'uomo, dove può generare ABORTI RIPETUTI: nella placenta bovina si colloca un fattore di crescita per il batterio, l'ERITROLO che ne stimola la proliferazione.

La patologia non si propaga nella carne dell'animale anche se il bovino è palesemente malato.

Soprattutto per ragioni di ordine economico gli allevamenti nel nostro paese sono stati fondamentalmente bonificati o oggi la brucella abortus è molto rara mentre la brucella melitensis, ovina, si mantiene stabile nella popolazione ovina. Tale differenza è legata al fatto che:

- l'allevamento bovino in Europa si esegue soprattutto in spazi interni, di conseguenza:



- è stato possibile debellare in modo relativamente facile tale patologia.
- è stato possibile eseguire la bonifica in fase di allevamento, in particolare grazie a sussidi che i governi davano per l'abbattimento dei capi di bestiame malati.
- l'allevamento ovino si svolge in modo completamente diverso, in spazi aperti, e risulta quindi più difficile debellare la brucella melitensis.

Inoltre a livello legislativo è richiesto un continuo controllo della qualità del bestiame.

LA BRUCELLOSI NELL'UOMO:

tale patologia nell'uomo si sviluppa in questo modo:

- INFEZIONE nelle vie sopra descritte.
- LA BRUCELLA RAGGIUNGE IL TRATTO ENTERICO.
- NON DA SINTOMI GASTROINTESTINALI: il microorganismo raggiunge RAPIDAMENTE LINFONODI LOCALI E SANGUE.
- DAL SANGUE il batterio viene catturato da:
 - fegato.
 - milza.
 - linfonodi.
 - midollo osseo.

dove si moltiplica IN SEDE INTRACITOPLASMATICA dalla quale viene LIBERATO A FREQUENZA PERIODICA generando una serie di SINTOMI ALTALENANTI. Nelle sedi di replicazione si possono riscontrare:

- granulomi.
- lesioni necrotico degenerative.

che si estrinsecano in:

- epatosplenomegalia ESTREMAMENTE SIGNIFICATIVA.
 - Linfadenopatia diffusa.
 - coinvolgimento osteoarticolare anche significativo.
 - con la moltiplicazione E LA LIBERAZIONE NEL SANGUE si hanno sintomatologie di questo tipo:
 - malessere.
 - brividi.
 - sudorazione.
 - astenia.
 - mialgia
 - artralgia.
 - FEBBRE che presenta della particolarità:
 - sale nel corso del pomeriggio.
 - cala durante la notte ed è accompagnata da una profusa sudorazione.
- si parla di FEBBRE ONDULANTE O FEBBRE MALTESE¹: QUESTA FEBBRE PROCEDE ANCHE PER LUNGI PERIODI.
- COMPLICANZE POSSIBILI Possono essere:

¹ studiata per la prima volta a Malta da uno studioso italiano, Castellani, inviato in sede dalle autorità inglesi, fu poi uno scienziato inglese, di nome Bruce, a proclamare la scoperta alla comunità scientifica prendendone il merito.

- ostiomelite.
- Meningite.
- Nel maschio sono abbastanza presenti le ORCHITI.

non è facile da diagnosticare in quanto si tratta di una infezione relativamente rara.

LA DIAGNOSI DI BRUCELLOSI:

fatta la visita e riscontrate linfadenopatia ed epatosplenomegalia, è possibile eseguire una lieve pressione a livello del rachide che, anche se lieve, può generare UN DOLORE legato al fatto che la infezione midollare può interessare anche le strutture ossee.

LA RICERCA DEL BATTERIO si esegue tramite:

- LE EMOCOLTURE sono spesso e anche ripetutamente negative.
- PUNTURA MIDOLLARE se possibile si cerca di non eseguirla vista la difficoltà e dolorosità della operazione.

In LABORATORIO si esegue una EMOCOLTURA, è tuttavia importante ricordare il fatto che le BRUCELLE richiedono un TEMPO DI INCUBAZIONE PROLUNGATO, ANCHE PIÙ DI CINQUE GIORNI; risulta quindi necessario segnalare il sospetto diagnostico in quanto deve essere posto in coltura il batterio:

- con una incubazione prolungata.
- Con una incubazione in terreno d'acqua e anidride carbonica.

IDENTIFICAZIONE DELLE BRUCELLE

si tratta di un processo che si esegue tramite diverse prove quali:

- ossidasi.
- Catalasi.
- produzione di ureasi.
- produzione di acido solfidrico.
- resistenza a fuscina e tionina.
- agglutinazione con sieri monospecifici.

si possono anche RICERCARE ANTICORPI contro tale batterio, si tratta di una scelta generalmente conveniente in quanto la ricerca del batterio può essere difficile; inoltre la malattia ha un andamento lento nel tempo e quindi da il tempo all'organismo di produrre anticorpi. SI ESEGUE GENERALMENTE UNA REAZIONE DI AGGLUTINAZIONE CLASSICA DETTA REAZIONE WRIGHT:

- si prepara una serie di campioni diluiti uno a due di SIERO.
- si immette in ciascuno di essi UNA QUANTITÀ UGUALE DI BRUCELLA.
- si osservano, in presenza di anticorpi per le brucelle, FENOMENI DI AGGLUTINAZIONE.

in laboratori piccoli si eseguono a volte solo le prime provette a diluizione più elevata: se positive si prosegue, in caso contrario no. Si tratta di un metodo sbagliatissimo in quanto si possono riscontrare degli EFFETTI PARADOSSO dove LE PRIME PROVETTE si presentano come dei FALSI NEGATIVI, questo avviene non solo per questa malattia ma anche per altre. Il fenomeno è legato al fatto che vengono prodotti anticorpi incompleti:

- NORMALMENTE la brucella agglutina in quanto un anticorpo forma UN PONTE TRA DUE CELLULE BATTERICHE.

- SE SONO PRODOTTI ANTICORPI INCOMPLETI questi NON SONO CAPACI DI DARE FENOMENI DI CROSS LINK che di fatto rendono IMPOSSIBILE IL FENOMENO DI AGGLUTINAZIONE.

È possibile eseguire il medesimo TEST in modo diverso.

- Si produce un ANTIANTECORPO sensibile al frammento Fc delle immunoglobuline viene posto in fondo e sulla superficie del pozzetto.
- gli anticorpi anti brucella si legano all'antianticorpo.
- Se sono presenti nel siero anticorpi anti brucella, allora la immissione DI BRUCELLE GENERERÀ IL LORO DEPOSITO SULLA SUPERFICIE DEL POZZETTO.

se non sono presenti anticorpi anti brucella, le brucelle si depositeranno semplicemente sul fondo della provetta.

MECCANISMI DI CONTROLLO DELLA BRUCELLOSI:

ad oggi il controllo della brucellosi è garantito da alcune norme fondamentali quali:

- CONTROLLO DEGLI ANIMALI INFETTI.
- ABBATTIMENTO DEGLI ANIMALI INFETTI.
- VACCINAZIONE degli animali con un ceppo di brucella abortus 19 VIVO AVIRULENTO.

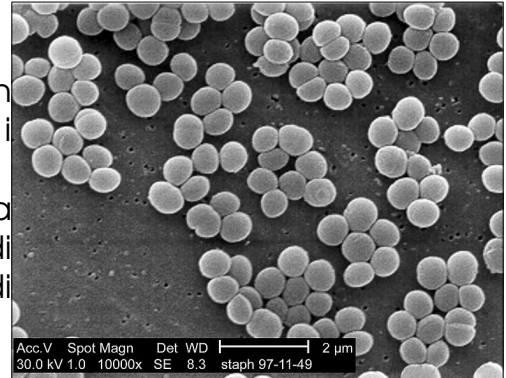
Ricordiamo infine che la brucellosi è nota volgarmente nel mondo con nomi molto diversi quali:

- malattia di Bang.
- Febbre di Gibraltari.
- Febbre di Malta.
- Febbre Maltese.
- Febbre Mediterranea.
- Febbre delle montagne rocciose.
- Febbre ondulante.

STAFFILOCOCCI:

Gli stafilococchi sono batteri:

- cocchi gram positivi.
- generalmente si presentano riuniti in ammassi irregolari.
- immobili.
- asporigeni.
- privo di capsula evidente: essa risulta non visibile, ma sono capaci di sintetizzare i polisaccaridi capsulari.
- Alofili: questa caratteristica risulta estremamente utile nella formazione di terreni di coltura adatti a questo tipo di batteri.
- aerobi anaerobi facoltativi.
- catalasi positivi: si tratta di una prova molto semplice, si pone dell'acqua ossigenata in soluzione con questi batteri, se viene degradata, allora il batterio produce catalasi.



Colonia di stafilococcus auerus al microscopio elettronico a scansione.
[immagine tratta da wikipedia](#)

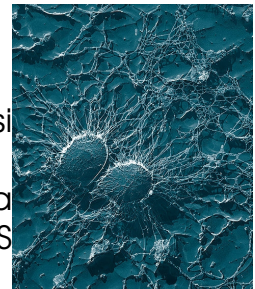
Fondamentalmente in questo eterogeneo mondo possiamo riconoscere:

- STAFFILOCOCCUS AUERUS.
- UN COMPLESSO ETEROGENEO DI STAFFILOCOCCI MOLTO VARIO; tali microorganismi sono caratterizzati dal fatto di non avere capacità di produrre LA COAGULASI.

STAFFILOCOCCUS AUREUS:

Questo microorganismo genera infezioni molto diverse tra loro:

- INFEZIONI A CARICO DI CUTE E SOTTOCUTE in particolare:
 - foruncoli che possono evolvere ad ascessi o presentarsi come tali.
 - IMPETIGINE: infezione cutanea relativamente grave, risulta causata, in ogni caso, generalmente da STREPTOCOCCUS PYOGENES.
 - infezioni di ferite e ustioni: si tratta di una delle complicanze più tipiche della operazione chirurgica.
 - SETTICEMIA e INFEZIONI METASTATICHE quali per esempio:
 - endocarditi.
 - meningiti.
 - polmoniti.
 - Osteomielite cioè infezione del midollo osseo.
 - Plemie: accesso di pus e materiale purulento nel sangue.
- Questi microorganismi sono inoltre in grado di attaccare la matrice ossea generando delle lesioni irraggiungibili sia alle nostre cellule bianche che ad antibiotici somministrati per vie orale o endovenosa.
- QUADRI TOSSICI:



- intossicazioni alimentari prodotte da stafilococchi produttori di tossine enteropatogene.
- sindrome della cute scottata legata ad una specifica tossina.
- sindrome da shock tossico.

FATTORI DI VIRULENZA:

i fattori di virulenza di questo tipo di BATTERIO sono molto numerosi, in particolare possiamo ricordare:

- **ESOTOSSINE** si tratta infatti un batterio gram positivo; queste sono:
 - emolisina alfa.
 - emolisina beta.
 - emolisina gamma.
 - emolisina delta.tutte presentano attività PIROGENA E CITOLITICA rispetto sia a globuli rossi che ad altri tipi di cellule.
 - tossine pirogene.
 - enterotossina.
 - leucocidina che agisce sui globuli bianchi, SOPRATTUTTO polimorfonucleati: tale tossina, producendo la morte di numerosi globuli bianchi, incrementa in modo notevole LA PRODUZIONE DI PUS. A livello citopatico la tossina causa:
 - rottura dei lisosomi.
 - morte della cellule bianche.
- **ESOEENZIMI**: si tratta di enzimi che favoriscono la diffusione o il mimetismo del batterio, ricordiamo:
 - DNA asi che depolimerizza il DNA presente nel PUS fluidificandolo e rendendo il movimento del batterio più facile.
 - Jaluronidasi che degrada l'acido ialuronico presente nei tessuti connettivi.
 - proteasi che degradano proteine.
 - lipasi che degradano il SEBO, secreto altamente lipidico ad attività antibatterica, proteggendo il batterio dalla sua azione antiadesiva.
 - coagulasi: produce una coagulazione, fa cioè polimerizzare il fibrinogeno a fibrina:
 - risulta essenziale in quanto il microorganismo si mimetizza nella fibrina che produce nascondendosi al sistema immunitario.
 - promuove la formazione di un coagulo con il quale viaggia nel circolo fino a raggiungere sedi anche pericolose dal punto di vista infettivo.
 - Staffilochinasi: si tratta di enzimi AD ATTIVITÀ TROMBOLITICA che depolimerizzando la fibrina e FANNO SÌ CHE IL BATTERIO, al momento giusto, SI LIBERI DEL COAGULO DI CUI SI È RICOPERTO.

LA ENTEROTOSSINA:

tale tossina infetta generalmente alimentari e risulta veicolata da operatori portatori sani di stafilococcus aureus a livello della mucosa nasale soprattutto. Dal punto di vista alimentare sono un veicolo tipico:

- prosciutto.

- creme.

Fondamentalmente nel cibo infetto gli stafilococchi:

- producono la tossina.
- Spesso muoiono.

Anche a seguito della morte del batterio, la tossina permane sull'alimento e presenta una forte azione enteropatica. La pericolosità di questa tossina è abbastanza elevata, questo è tanto vero che la profilassi per chi lavora con alimenti prevede periodicamente:

- controllo per lo stafilococcus aureus.
- controllo per la salmonella.

Fondamentalmente i sintomi causati da questo tipo di antigene tossinico sono:

- NAUSEA.
- VOMITO.
- DIARREA CRAMPIFORME, si tratta di una diarrea dolorosa.

tali sintomi si estrinsecano nell'arco di qualche ora, 3-4 ore.

strutturalmente:

- SI TRATTA DI UNA NEUROTOSSINA e questo si estrinseca nelle particolari azioni che presenta:
 - DIARREA CRAMPIFORME: la diarrea può essere materialmente causata da due alterazioni fondamentalmente:
 - deformazioni della attività cellulare intestinale.
 - modificazioni della peristalsi intestinale.le contrazioni non coordinate e scorrette generano di fatto un DOLORE molto forte a livello enterico.
 - anche il VOMITO deriva dalla attività neurogena della tossina: attraversa la barriera ematoencefalica e si porta a livello dell'area postrema dove provoca una forte stimolazione al vomito.
- Si tratta di un peptide di 28-35kd che presenta molte varianti antigeniche quasi tutte:
 - termoresistenti.
 - Resistenti ad enzimi proteolitici.
- Non ha attività pirogena.

TOSSINA EPIDERMOLITICA:

si tratta della tossina che causa la SINDROME DELLA CUTE SCOTTATA o SINDROME DI RITTER O IMPETIGINE BOLLOSA, si tratta di una sindrome fondamentalmente neonatale per cui la cute assume l'aspetto di una ustione:

- arrossamento forte.
- bolle.
- distacco della parte superficiale della epidermide dai piani sottostanti.

questa tossina UNICA NEL SUO GENERE agisce in sede extracellulare a livello dei DESMOSOMI CAUSANDO IL DISTACCO DELLE CELLULE CHE COSTITUISCONO L'EPIDERMIDE. Si tratta di un quadro patologico relativamente raro.

TOSSINA DELLO SHOCK TOSSICO:

si tratta di una tossina rarissima, tra i pochi casi registrati ricordiamo che negli stati uniti tale tossina fu letale per alcune giovani donne:

- febbre.
- vomito-diarrea.
- rash cutaneo.
- grave ipotensione legata ad uno SHOCK IPOVOLEMICO NOTEVOLE.

queste donne avevano in comune fondamentalmente due cose:

1. ciclo mestruale.
2. utilizzo di tamponi interni.

si trattava a quanto pare di donne assolutamente asintomatiche che ospitavano colonie di *STAFFILOCOCCUS AUREUS* a livello delle vie genitali: durante il ciclo mestruale, viste le condizioni favorevoli, tali patogeni avrebbero semplicemente:

- cominciato a moltiplicarsi.
- Prodotto una grande quantità di tossina che sarebbe passata attraverso l'endometrio danneggiato.

STAFFILOCOCCHI COAGULASI NEGATIVI:

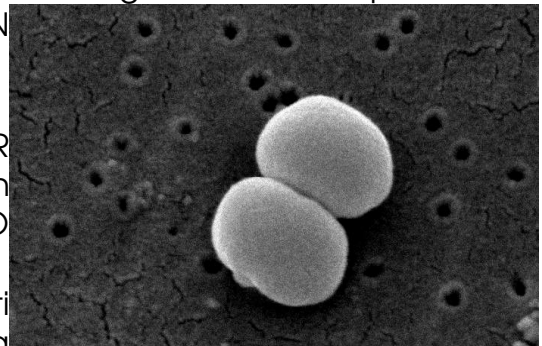
si tratta di batteri che fino ad alcuni anni fa venivano considerati assolutamente innocui, ad oggi tali batteri vengono refertati e sono estremamente importanti dal punto di vista infettivo, soprattutto relativamente a infezioni legate a CORPI ESTRANEI quali:

- CATETERE VASCOLARE.
- PROTESI VALVOLARI, D'ANCA E ARTICOLARI IN GENERALE.

STAFFILOCOCCUS EPIDERMIDIS:

si tratta sicuramente dello stafilococco più comune di questa serie, si trova generalmente a livello CUTANEO e presenta una grandissima capacità di ADESIONE legata proprio al fatto DI NON PRESENTARE UNA CAPSULA EVIDENTE:

- sa produrre gli esopolisaccaridi.
- NON RIESCE AD ASSEMBLARLI PER FORMARE UNA CAPSULA EVIDENTE in quanto ne produce UNA QUANTITÀ MOLTO GRANDE.
- L'accumulo di componenti polisaccaridiche sulla superficie della protesi o del catetere PRODUCE UN BIOFILM che CONSENTE AL BATTERIO DI ADERIRE AD ESSO. Si tratta di:
 - una MATRICE all'interno della quale il batterio prolifera senza problemi.
 - A volte è tanto resistente da bloccare addirittura gli antibiotici.



Come noto le ENDOCARDITI si possono dividere in:

- ENDOCARDITI SU VALVOLA NATIVA causate principalmente da streptococchi.
- SU VALVOLA PROTESICA che:
 - nelle fasi immediatamente successive al trapianto sono causate da stafilococchi generalmente del genere COAGULASI NEGATIVI.
 - Nelle fasi più avanzate, successivamente al trapianto, sono causate principalmente da STREPTOCOCCI.

La patogenicità di questi batteri è quindi strettamente legata alla ATTIVITÀ

ADESIVA degli stessi e dalle OPPORTUNITÀ OFFERTE DALLE MODERNE TECNICHE MEDICHE.

INDIVIDUAZIONE E DIAGNOSI:

si tratta di una diagnosi relativamente semplice, questi batteri, infatti, crescono bene su terreni di coltura arricchiti con sali. Per la identificazione si utilizzano spesso CHIAVI DICOTOMICHE, si tratta infatti di:

- COCCHI GRAM POSITIVI, una volta individuati come tali possono essere unicamente stafilococchi o streptococchi.
- SI ESEGUE IL TEST DELLA CATALASI come accennato in precedenza:
 - se POSITIVO si tratta di stafilococchi.
 - Se NEGATIVO si tratta di streptococchi.
- A questo punto è possibile determinare di quale stafilococco eventualmente si tratti tramite una prova di coagulasi:
 - se POSITIVA si tratta di aureus.
 - Se NEGATIVA si tratta di stafilococchi coagulasi negativi (CNS).

Nel 75% dei casi con stafilococco coagulasi negativo si intende lo stafilococcus epidermidis, almeno per quanto riguarda il materiale prelevato dall'uomo. Un referto indicato in questo modo è generalmente sufficiente, è possibile tuttavia, ove necessario, identificare in modo maggiormente preciso il batterio, ma si tratta di una PROCEDURA SPESSO INUTILE E MOLTO DISPENDIOSA.

FARMACORESISTENZE:

Le farmacoresistenze di questo tipo di batteri possono essere problematiche dal punto di vista clinico, in particolare possiamo distinguere fondamentalmente due ceppi per quanto riguarda la meticillina:

- MS o meticillino sensibili, sono pochi ormai, circa il 30% della intera popolazione.
- MR meticillino resistenti; tali batteri:
 - rappresentano la stragrande maggioranza della popolazione.
 - presentano anche farmacoresistenze notevoli associate alla attivazione di trasposoni associati alla resistenza alla meticillina.

Questa farmacoresistenza è associata, come già discusso, alla sintesi di una penicillin binding protein che presenta una bassa affinità di legame con i beta lattamici e che risulta, di fatto, polifunzionale.

Spesso una alternativa ottimale è rappresentata dalla VANCOMICINA, antibiotico peptidoglicosidico che inibisce il legame tra l'undeca prenol fosfato e il monomero di base del peptidoglicano, o un farmaco da essa derivato, la TEICOPLANINA. I ceppi di stafilococchi vancomicino resistenti (VRSA) cominciano ad emergere anche in piccola misura: spesso gli antibiotici come vancomicina e teicoplanina sono utilizzati nella terapia FARMACOLOGICA PREVENTIVA OPERATORIA e questo genera di fatto un notevole incremento della probabilità di stimolare resistenze antibiotiche in questo senso. D'altro canto si tratta dell'unica terapia sensata: la vancomicina è l'unico farmaco sicuramente capace di eliminare tali patogeni potenzialmente pericolosi. Al momento sembra sia in elaborazione un nuovo farmaco capace di eliminare tali batteri, risulta utilizzabile, tuttavia, unicamente su richiesta alla casa farmaceutica.

Giordano Perin; batteriologia speciale 6: stafilococchi

Per la prevenzione della propagazione di questo tipo di batterio sono ESSENZIALI LE NORMALI MISURE PROFILATTICHE DI PULIZIA sia degli ambienti, che degli operatori: la maggior parte delle infezioni di questo tipo è legata alla trasmissione paziente-paziente mediata dall'operatore sanitario.



LE BORDETELLE:

si tratta di:

- coccobacilli gram negativi.
- asporigeni.
- immobili.
- privi di capsula.
- Quasi tutti aerobi obbligati.

sono microorganismi estremamente fragili. Dal punto di vista clinico ricordiamo tre di questi batteri:

- bordetella pertussis
- bordetella papapertussis.
- Bordetella bronchiseptica che è motile.

LA PERTOSSE:

si tratta di una patologia molto grave se contratta al di sotto dell'anno di vita tanto da divenire una patologia potenzialmente mortale. Complessivamente possiamo riconoscere un decorso di questo tipo:

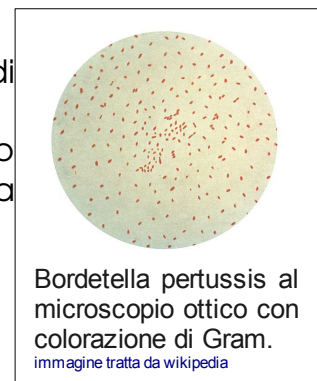
- CONTAGIO UNICAMENTE PER VIA INALATORIA.
- INCUBAZIONE asintomatica della durata di una decina di giorni.
- FASE CATARRALE si tratta di una fase di durata di una o due settimane, in alcuni casi anche di più, caratterizzata da:
 - starnutazione e rinorrea.
 - febbre.
 - astenia.
 - anoressia.
 - malessere.

In questa fase, a meno che non vi siano ANAMNESI RELATIVE AL CONTATTO CON PERSONE CONTAGIATE DA PERTOSSE, È PRATICAMENTE IMPOSSIBILE ESEGUIRE UNA DIAGNOSI CORRETTA.

- FASE PAROSSISTICA: in questa fase, della durata di due-quattro settimane, possiamo assistere a:
 - eccessi parossistici di tosse.
 - broncospasmo.
 - difficoltà respiratoria.

il bambino durante questa fase ha difficoltà a controllare la tosse ed emette suoni insoliti legati alla presenza del BRONCOSPASMO che riduce il diametro del bronco, in particolare:

- il bambino piccolo presenta un rischio maggiore in quanto i bronchi hanno un diametro inferiore.
- il broncospasmo rende difficile sia l'ingresso che l'uscita dell'aria dalle strutture alveolari.



- FASE CONVALESCENTE della durata anche di 4 settimane:
 - diminuiscono gli eccessi parossistici in:
 - frequenza.
 - durata.
 - gravità.
 - si va verso la normalizzazione.
- si possono avere DUE TIPI DI COMPLICANZE:
 - ENCEFALOPATIA dovuta ad IPOSSIGENAZIONE associata, chiaramente al BRONCOSPASMO.
 - POLMONITE SOVRAPPOSTA.

IL BRONCOSPASMO è una componente fondamentale della sintomatologia della pertosse e si tratta del fattore che rende di fatto la patologia maggiormente pericolosa.

La estrema aggressività di questo tipo di patogeno è legata al fatto che LA BORDETELLA ESPRIME NUMEROSI FATTORI DI VIRULENZA IMPORTANTI quali per esempio:

- ADESINE questo microbo presenta una capacità di adesione incredibile: durante l'infezione stessa le bordetelle aderiscono alle superfici epiteliali delle aree bronchiali. Le adesine che questo batterio esprime sono numerose e diverse e sono tanto importanti che è attualmente allo studio un SISTEMA DI VACCINAZIONE BASATO PROPRIO SU QUESTO TIPO DI MOLECOLE.
- ENDOTOSSINA O TOSSINA TERMOSTABILE: si tratta di una tossina che genera un danno DIRETTO all'epitelio respiratorio.
- CITOTOSSINA TRACHEALE che provoca una forte inibizione della sintesi del DNA nelle cellule ciliate tracheali e di conseguenza porta ad una netta diminuzione della agitazione ciliare e quindi ad un accumulo di muco nelle parti più basse delle vie respiratorie.
- TOSSINA DERMONECROTICA.
- TOSSINA DELLA PERTOSSE che causa di fatto la sintomatologia tipica della pertosse, in particolare si tratta di una proteina:
 - costituita di 5 subunità.
 - del peso di 100kD.
 - la sua azione è quella di INCREMENTARE LA SENSIBILITÀ DELLE STRUTTURE BRONCHIALI ALLA ISTAMINA incrementando quindi notevolmente la contrazione delle strutture muscolari lisce che le compongono.
- Questo microorganismo produce inoltre una tossina capace di AGIRE A LIVELLO DEI MECCANISMI DI PRODUZIONE DELL'AMP ciclico CELLULARE: tale tossina, probabilmente bloccando la attivazione degli inibitori della adenilato ciclasi, INCREMENTA L'OPERATO DELLA ADENILATO CICLASI STESSA portando ad UN INCREMENTO NETTO DELLE CONCENTRAZIONI INTRACELLULARI DI AMPciclico. Sembra che tale tossina sia essenziale rispetto alla attività delle cellule della risposta naturale: l'incremento dell'AMP ciclico porta ad un decremento della loro attività di fagocitosi e non solo.

La malattia, come visto, presenta un decorso abbastanza lungo, soprattutto per quanto riguarda la fase catarrale durante la quale si osserva la massima

contagiosità, infatti:

- nel periodo catarrale la BORDETELLA È PRESENTE NELL'EPITELIO RESPIRATORIO DEL PAZIENTE.
- nel periodo parossistico IL MICROORGANISMO NON È PRESENTE NELL'EPITELIO RESPIRATORIO E LA MALATTIA SI MANTIENE DA SOLA.

LA TERAPIA PER QUESTA MALATTIA SI BASA FONDAMENTALMENTE SU MACROLIDI, antibiotici come la eritromicina e la claritromicina che BLOCCANO L'ATTIVITÀ RIBOSOMIALE. TALE TERAPIA VA ESEGUITA A MONTE IN QUANTO È EFFICACE UNICAMENTE NELLA FASE CATARRALE.

ESAMI DI LABORATORIO:

È anzitutto importante sottolineare il fatto che il MICROORGANISMO È PRELEVABILE UNICAMENTE NELLA FASE CATARRALE DELLA MALATTIA. LA BORDETELLA PERTUSSIS È RELATIVAMENTE FACILE DA COLTIVARE a patto che sia eseguito il prelievo direttamente in laboratorio: il microorganismo muore nell'arco di qualche ora se non viene posto in un ambiente ottimale alla sua crescita. Un tempo si utilizzava la PIASTRA DELLA TOSSE: si faceva tossire il bambino direttamente nella piastra di coltura composta da un terreno detto BORDET GENGOU, si tratta di un terreno specifico per la crescita della bordetella pertussis.

Dal punto di vista clinico è possibile eseguire una DIAGNOSI INDIRETTA, più semplice della ricerca della bordetella, soprattutto nelle fasi più avanzate.

In ogni caso generalmente NON SI ESEGUONO ANALISI MICROBIOLOGICHE PER QUESTO MICROORGANISMO IN QUANTO LA PATOLOGIA RISULTA FACILMENTE INDIVIDUABILE.

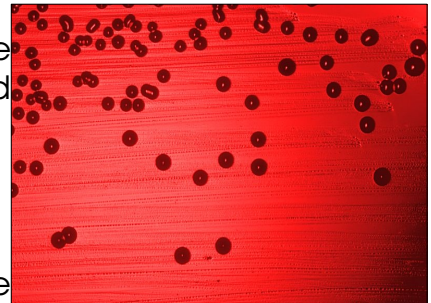
GLI EMOFILI:

La denominazione di questo tipo di batteri è legata al fatto che si tratta di microorganismi che necessitano, per crescere, di alcune componenti del sangue; in linea generale si tratta di:

- bastoncini polimorfi, presentano cioè forme strutturalmente diverse tra loro ma assimilabili ad un bastoncino.
- gram negativi.
- non si muovono.
- non producono spore.

crescono solo in presenza di sangue o in terreni che presentino le due componenti fondamentali di cui tali batteri necessitano:

1. fattore X o gruppo EME.
2. fattore V cioè NAD o NADP.



Coltura di emophilus influenzae in un terreno di agar e sangue.
immagine tratta da wikipedia

EMOPHILUS INFLUENZAE:

L'emophilus influenzae di tipo B è sicuramente il microorganismo maggiormente pericoloso da questo punto di vista, presenta infatti una CAPSULA al contrario delle alte tipologie di emophilus influenzae, e risulta tipizzabile. Le patologie causate da questo microorganismo sono:

- MENINGITE sicuramente il quadro patologico più grave che questo microorganismo può causare.
- EPIGLOTTITE: si tratta di un quadro patologico infettivo grave soprattutto nel bambino, si tratta infatti di una infezione PEDIATRICA. A seguito di tale infezione può addirittura essere necessario intubare il bambino per evitare il suo soffocamento.

Tutti gli altri tipi di emophilus influenzae, che sono NON TIPIZZABILI in quanto privi di capsula, possono dare vita a quadri patologici quali:

- OTITE MEDIA.
- SINUSITE.
- POLMONITE o BRONCOPOLMONITE.

fondamentalmente a questo gruppo possono appartenere sia EMOPHILUS INFLUENZAE di gruppi diversi dal B sia EMOPHILUS INFLUENZAE DI TIPO B CHE ABBAIA PERSO LA PROPRIA CAPSULA.

IL RICONOSCIMENTO DEL BATTERIO:

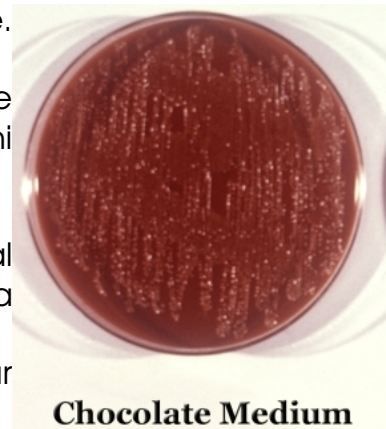
L'emophilus influenzae è relativamente facile da riconoscere, una volta posto in un campione infatti presenta dei comportamenti tipici:

- posto in un terreno di AGAR SANGUE cresce senza problemi.
- posto in un TERRENO PRIVO DI SANGUE non riesce a crescere.
- se viene infine posto in un TERRENO PRIVO DI SANGUE ma ASSOCIATO A STRISCE ASSORBENTI IMBEVUTE DEI FATTORI X E V allora possiamo assistere a tre fenomeni distinti:
 - se il BATTERIO NECESSITA SOLO DEL FATTORE X, allora crescerà solo in

prossimità della striscia imbevuta di tale fattore. Un tipico esempio è l'*hemophilus Duckrey*.

- se il BATTERIO NECESSITA SOLO DEL FATTORE V allora crescerà solo in prossimità della striscia imbevuta di tale fattore. Un tipico esempio è l'*emophilus parainfluenzae*.
- se infine il microorganismo necessita di entrambe le componenti, allora prolifererà nelle regioni poste tra le due strisce. Tipici esempi sono:
 - L'*emophilus influenzae*.
 - L'*emofilus hemoliticus*, distinguibile dal precedente per il fatto che il questo presenta capacità emolitica.

Un ottimo terreno di crescita per questi batteri è l'agar cioccolato contenente sangue cotto.



HEMOPHILUS DUCKREY:

Si tratta di un batterio che causa l'ULCERA MOLLE, una malattia venera tipica della paesi tropicali che a livello sintomatologico ricorda molto il sifiloma primario. Tale patologia:

- si propaga unicamente per CONTAGIO SESSUALE.
- presenta un PERIODO DI INCUBAZIONE DI 2-5 giorni.
- si manifesta inizialmente come una PAPULA A LIVELLO GENITALE.
- LA PAPULA subisce un processo di ULCERAZIONE, a differenza della ulcera tipica della sifilide tale lesione:
 - presenta MARGINI NETTI.
 - si presenta DOLOROSA.

I CLOSTRIDI:

I CLOSTRIDI sono:

- bastoncini generalmente gram positivi, a volte a colorazione di gram incerta.
- sono sporigeni, analogamente ai bacilli.
- presentano una SPORA in posizione SUBTERMINALE CHE DEFORMA, quando presente, IL SOMA BATTERICO DANDOGLI UNA FORMA A BACCHETTA DI TAMBURO.
- SONO a volte MOBILI.
- SONO PRESENTI NEL SUOLO E NELL'INTESTINO DI MOLTI ANIMALI che li liberano attraverso le feci.
- sono ANAEROBI STRETTI.

appena immessi nell'ambiente esterno SI TROVANO IN UNA SITUAZIONE OSTILE, vista la presenza di ossigeno, e danno vita a SPORE.

I CLOSTRIDI DI MAGGIORE SIGNIFICATIVITÀ MEDICA SONO:

- clostridium tetani.
- clostridium botulinum.
- clostridium perfringens.
- clostridium difficile.

Molti di questi clostridi sono capaci di produrre neurotossine: al momento ne sono state individuati sette tipi differenti, e solo alcuni ceppi presentano la capacità di produrne più di una.

IL CLOSTRIDIUM TETANI:

la tipica sintomatologia del tetano è una PARALISI SPASTICA DELLA MUSCOLATURA DI TUTTO IL CORPO, facciale, scheletrica e respiratoria. Ad oggi i casi nei paesi occidentali sono molto pochi, possiamo dire che la malattia risulta ancora diffusa:

- in Africa.
- in Sudamerica anche se in misura minore.
- in alcuni paesi asiatici.

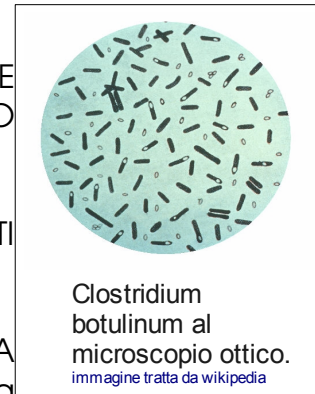
SI TRATTA PREVALENTEMENTE DI FORME DI TETANO PEDIATRICO: una buona percentuale di questi casi è causata dall'utilizzo dello sterco di cammello in forma anticoagulante per la recisione del cordone ombelicale. Nei paesi occidentali, e non solo, il tetano è stato debellato:

- per la presenza di un vaccino efficace basato sulla anotossina.
- per la attività profilattica che contraddistingue le misure igieniche del nostro paese.

è importante sottolineare il fatto che le spore sono in ogni caso largamente rappresentate nell'ambiente anche nel nostro paese.

PARALISI SPASTICA:

si tratta di una impossibilità di movimento legata al fatto che vi è una incontrollata contrazione della muscolatura. La tipica contrazione TETANICA ORIGINA DI FATTO DALLA CONTRAZIONE SIMULTANEA DEI MUSCOLI AGONISTA E ANTAGONISTA CHE



RENDE IMPOSSIBILE IL MOVIMENTO.



Immagine di Sir Charles Bells raffigurante un paziente affetto da tetano.

LA INFEZIONE E LA MALATTIA:

Generalmente per poter CONTRARRE UNA PATOLOGIA DI QUESTO TIPO È NECESSARIO CHE UNA FERITA LACEROCONTUSA SIA ESPOSTA A DELLE SPORE DEL TETANO; un ferita lacerocontusa è una ferita che:

- presenta una lacerazione dei tessuti.
- presenta contusione vasale che porta alla rottura dei vasi sanguiferi stessi di modo da non esporre il batterio all'ossigeno.

a questo punto le spore batteriche hanno raggiunto la sede di infezione:

- LE SPORE GERMINANO.
- IL BATTERIO NON SI MUOVE DALLA SEDE DI INFEZIONE nella quale è penetrato, infatti:
 - NON SI PUÒ MUOVERE.
 - NON PUÒ CIRCOLARE NEL SANGUE IN QUANTO ENTREREBBE IN CONTATTO CON L'OSSIGENO.
- PRODUCE UNA TOSSINA CHE FILTRA IN CIRCOLO dove agisce:
 - si lega alle membrana sinaptiche delle terminazioni nervose presenti la dove viene prodotta la tossina.
 - si distribuisce per via ematica al tessuto muscolare.
 - si lega alle placche motrici.
 - diffonde lungo gli assoni dei nervi motori.
 - si porta alle corna anteriori del midollo spinale.
 - BLOCCA LA TRASMISSIONE DEGLI IMPULSI NELLE SINAPSI INIBITORIE il motoneurone alfa.

IL BLOCCO DELLE FIBRE INIBITORIE blocca i MECCANISMI DI CONTROLLO DELLA DISTENSIONE DEI MUSCOLI ANTAGONISTI QUELLI COINVOLTI NEL MOVIMENTO CHE L'INDIVIDUO INTENDE ESEGUIRE.

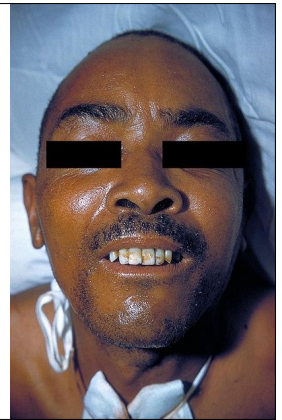
A livello molecolare SI TRATTA DI UNA ZINCOPROTEASI: tale enzima degrada alcune proteine coinvolte nei meccanismi di liberazione del trasmettitore vescicolare

inibitorio, in particolare, sembra sia coinvolta la sinaptobrevina II. LA MALATTIA È MORTALE in quanto genera la paralisi spastica dei muscoli respiratori come



Bambino affetto da tetano neonatale e un adulto colpito da contrazioni tetaniche spastiche al massetere.

immagine tratta da wikipedia
immagine tratta da wikipedia



IL TRATTAMENTO DELLA PATOLOGIA:

la vaccinazione sfrutta, come accennato in precedenza, una ANOTOSSINA cioè una tossina priva di potere tossico che genera una RISPOSTA IMMUNITARIA CONSISTENTE compatibile con la tossina vera e propria.

In caso di incidenti d'auto gravi si eseguono meccanismi profilattici di questo tipo:

- UNA IMMEDIATA SIEROPROFILASSI cioè la iniezione di anticorpi pronto uso.
- PULIZIA CHIRURGICA DELLA FERITA.

Nel momento in cui il paziente presenti I SINTOMI DELLA CONTRAZIONE TETANICA, LA PRIORITÀ DIVIENE QUELLA DI GARANTIRE LE SUE CAPACITÀ RESPIRATORIE:

- anzitutto si intuba il paziente.
- si inibisce la contrazione spastica della muscolatura RESPIRATORIA trasformandola in FLACCIDA per esempio utilizzando del CURARO.

IL CLOSTRIDIUM BOTULINUM:

la tossina del clostridium botulinum viene generalmente assunta per via ALIMENTARE: non si tratta infatti di una INFEZIONE, quanto piuttosto di UNA INTOSSICAZIONE. Il veicolo di questa intossicazione presenta alcune caratteristiche peculiari:

- si tratta generalmente di:
 - conserve fatte in casa sott'olio.
 - Miele: in questi casi l'ingestione è particolarmente pericolosa nell'infante in quanto l'adulto di fatto presenta una flora intestinale maggiormente reattiva e competitiva rispetto al clostridio stesso che è, in questo caso, generalmente presente.
- si sviluppa unicamente in assenza di ossigeno.
- il microorganismo a seguito della produzione della tossina, muore generalmente.

LA INGESTIONE DELLA TOSSINA:

- agisce a livello della placca motrice.
- essendo una zincoproteasi blocca la secrezione di neurotrasmettitore a livello delle sinapsi neuromuscolari.
- genera una PARALISI FLACCIDA DELLA MUSCOLATURA che si manifesta:

- inizialmente come ptosi palpebrale.
- in seguito porta a del paziente in quanto insorge una paralisi flaccida dei muscoli respiratori.

Oltre alla ingestione diretta della tossina, sono possibili anche:

1. colonizzazione da parte del batterio del tratto intestinale dell'ospite, come accennato più frequente nel bambino.
2. Colonizzazione, analogamente a quanto avviene per il clostridium tetani, di una ferita laceratocontusa aperta.

Le tossine di clostridium tetani e di clostridium botulinum sono strutturalmente e funzionalmente molto simili.

INTOSSICAZIONE DA TOSSINA BOTULINICA:

la intossicazione procede generalmente in questo modo:

- si manifesta a livello dei muscoli innervati dai nervi cranici, soprattutto:
 - muscoli legati a masticazione, oculomozione, deglutizione.
 - Muscoli facciali.
- Si allarga alla muscolatura delle spalle prima e quindi delle braccia.
- La paralisi si propaga alle regioni delle gambe a partire dalla coscia verso i piedi.
- Nello stadio finale la paralisi comincia ad interessare i muscoli della gabbia toracica e in particolare provoca:
 - iniziale dispnea.
 - Incremento delle concentrazioni di CO₂ PLASMATICHE con tutte le conseguenze legate a:
 - acidosi metabolica: l'incremento della anidride carbonica porta ad un aumento delle concentrazioni di acido carbonico circolante e quindi una diminuzione del pH.
 - Ipoossigenazione tissutale che colpisce soprattutto l'encefalo.

È inoltre dimostrato che alcune tossine prodotte dal clostridium hanno la capacità di agire a livello del sistema nervoso autonomo provocando sintomi quali:

- bocca e gola secca.
- Ipotensione posturale.
- Problemi peristaltici.
- Nausea e vomito.

INTOSSICAZIONE NELL'INFANTE:

come accennato in precedenza i casi di intossicazione nel bambino sotto l'anno di età sono associati alla ASSUNZIONE DIRETTA DI SPORE e dalla COLONIZZAZIONE ATTIVA DA PARTE DEL BATTERIO DELL'INTESTINO DEL PAZIENTE: questo è possibile proprio per il fatto che la flora intestinale del bambino è molto limitata, soprattutto nei primi sei mesi di vita durante i quali si riscontra il 90% dei casi. I sintomi della intossicazione sono:

- costipazione: segno tipicamente sottostimato di questa patologia.
- Debolezza.
- Difficoltà nutrizionali.
- Pianto alterato.
- Paralisi flaccida della muscolatura che può portare anche alla morte.

È quindi buona abitudine non dare del miele ai bambini al di sotto dell'anno di età.

LA GESTIONE DELLA MALATTIA:

nel momento in cui si sospetta o si sa che un paziente sia stato intossicato, si somministrano:

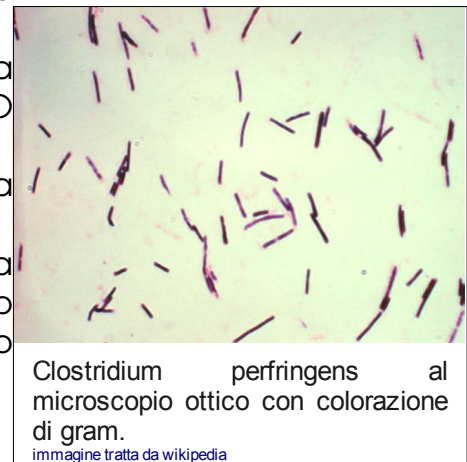
- anticorpi pronto uso immediatamente per impedire che la tossina raggiunga il suo recettore sulla placca neuromuscolare.
- si cerca di gestire la respirazione in modo artificiale: fondamentalmente risulta necessario prolungare al massimo il tempo di sopravvivenza del paziente di modo da far sì che il fisico si detossifichi.

il processo di DETOSSIFICAZIONE È LUNGO E DI DIFFICILE GESTIONE a livello clinico.

CLOSTRIDIUM PERFRINGENS:

si tratta di un microorganismo implicato in patologie molto diverse tra loro:

- GANGRENA GASSOSA: si tratta di una patologia che nasce da un EVENTO TRAUMATICO e che si divide in stadi differenti:
 - CELLULITE ANAEROBICA: si tratta di una flogosi infettiva del tessuto adiposo.
 - MIONECSI che si verifica a seguito della diffusione del batterio nel tessuto muscolare, durante questa fase possiamo trovare in circolo:
 - la tossina del clostridium.
 - la mioglobina di derivazione muscolare.



il soggetto presenta a questo punto una GRAVE COMPROMISSIONE GENERALE che diviene molto spesso mortale.

- la patologia assume a questo punto il nome di GANGRENA GASSOSA in quanto una grande quantità di GAS viene prodotta a livello dei tessuti necrotici: semplicemente poggiando la mano sul tessuto lesso si possono percepire le bolle che scoppiano.

queste infezioni richiedevano spesso consistenti AMPUTAZIONI.

- TOSSINFEZIONE ALIMENTARE, potenzialmente mortale per soggetti a rischio.
- ENTERITE NECROSANTE.

questo microorganismo ha un tempo di replicazione di 7 minuti, ha una capacità di proliferazione enorme.

CLOSTRIDIUM DIFFICILE:

Questo batterio si trova normalmente nell'intestino crasso e non dà problemi in quanto compete con microorganismi presenti in sede, se per un QUALSIASI MOTIVO VIENE SCONVOLTA LA FLORA INTESTINALE allora:

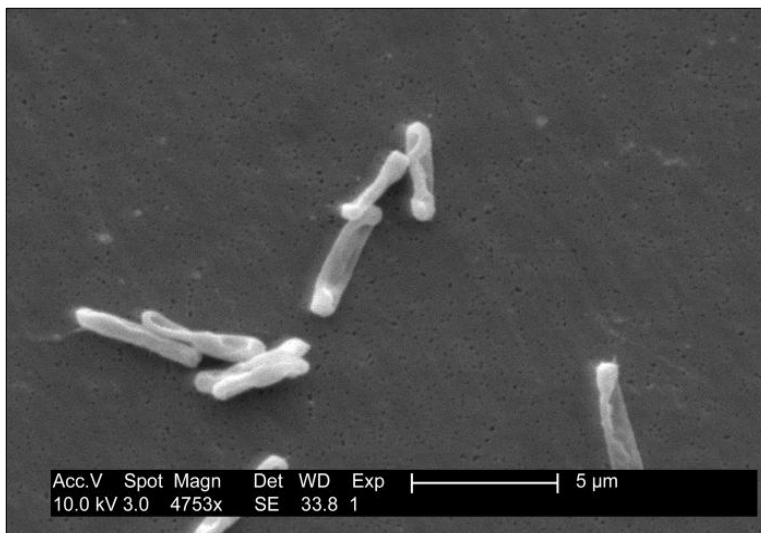
- si attiva la replicazione del clostridium.
- il batterio produce una grande quantità di tossina.
- la azione di questa particella si estrinseca in UNA COLITE PSUDOMEMBRANOSA: una colite caratterizzata dalla presenza di psudomembrane. Questa azione è legata al fatto che il batterio produce una tossina erosiva rispetto alla mucosa intestinale che può andare a provocare complicazioni consistenti quali:
 - emorragie intestinali.
 - riversarsi di materiale fecale nel peritoneo fino ad una eventuale peritonite.



Pseudomembrane tipiche della colite pseudomembranosa: oltre ai meccanismi di protezione tipici dei clostridi, cioè la spora, il clostridium difficile risulta particolarmente resistente a diversi antibiotici (probabilmente per la sua costante presenza a livello intestinale) e risulta protetto dalle pseudomembrane che egli stesso produce.

immagine tratta da wikipedia

Il trattamento di questa patologia si esegue generalmente con metronidazolo, noto come componente del Flagyl: si tratta di un antiinfettivo molto utile per questo batterio che ne risulta sostanzialmente sempre sensibile. L'uso della Vancomicina è sconsigliato molto spesso per il timore di generare dei ceppi resistenti di altri batteri quali enterobatteri ed enterococchi. È possibile inoltre utilizzare la COLESTIRAMINA: si tratta di una resina biliare capace di chelare la tossina prodotta dal batterio.



Clostridium difficile al microscopio elettronico.

immagine tratta da wikipedia

INDIVIDUAZIONE DEI CLOSTRIDI:

Molto difficilmente si eseguono in laboratorio analisi per questo tipo di batteri, fondamentalmente si possono eseguire:

- TITOLI ANTICORPALI PER VALUTARE LA PRESENZA O ASSENZA DI VACCINAZIONI soprattutto per il clostridium tetani.
- CONTROLLO DEL CAMPIONE ALIMENTARE PER DETERMINARE SE SIA O MENO PRESENTE IL CLOSTRIDIUM BOTULINUM O IL PERFRINGENS.

HELICOBACTER E CAMPYLOBACTER

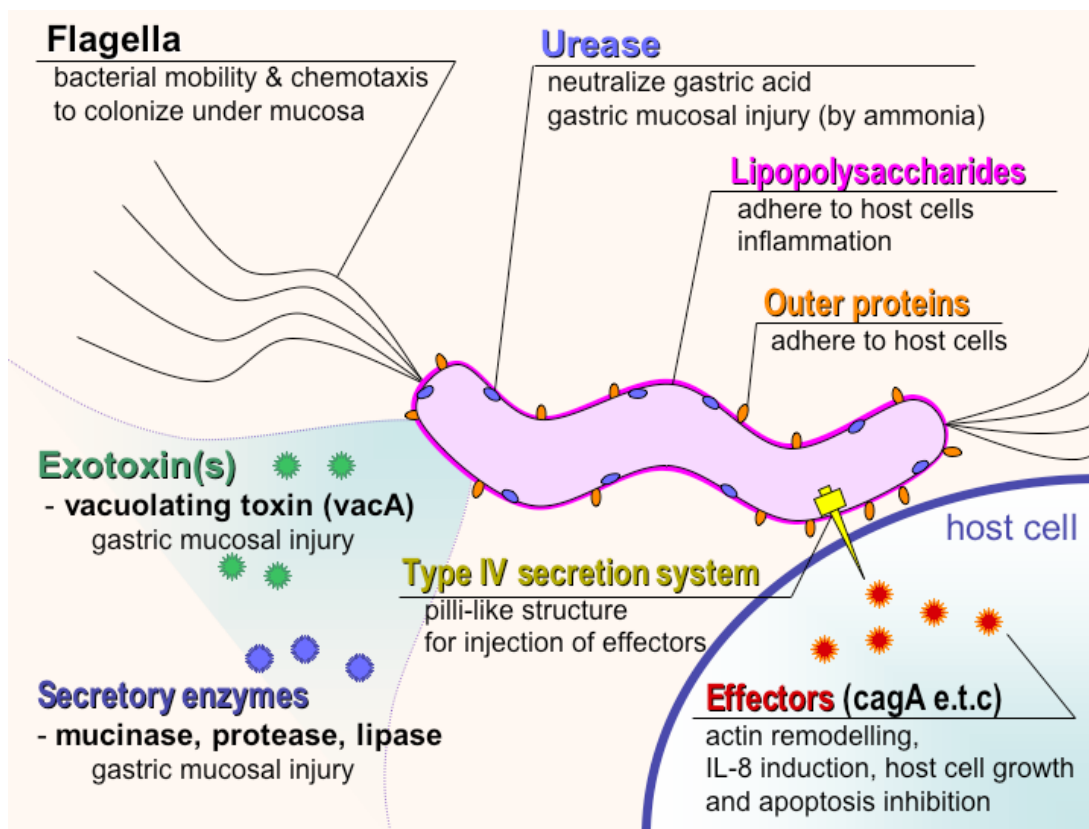
Questi due batteri non hanno fundamentalmente nulla in comune eccetto il tipo di patologia che possono generare.

HELICOBACTER PYLORI:

si tratta di un batterio:

- dalla morfologia spiraliforme.
- gram negativo anche se difficilmente colorabile.
- non fa spore.
- È mobile, presenta sempre 4-6 flagelli.
- Microaerofilo: sopravvive unicamente in date atmosfere a percentuali di ossigeno controllate.

Questo batterio viene spesso isolato o DA BIOPSIE GASTRICHE DI SOGGETTI CON L'ULCERA GASTRODUODENALE o da soggetti SANI.

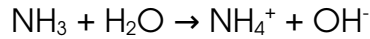
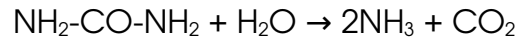


L'ULCERA GASTRODUODENALE può essere legata fundamentalmente a tre cause:

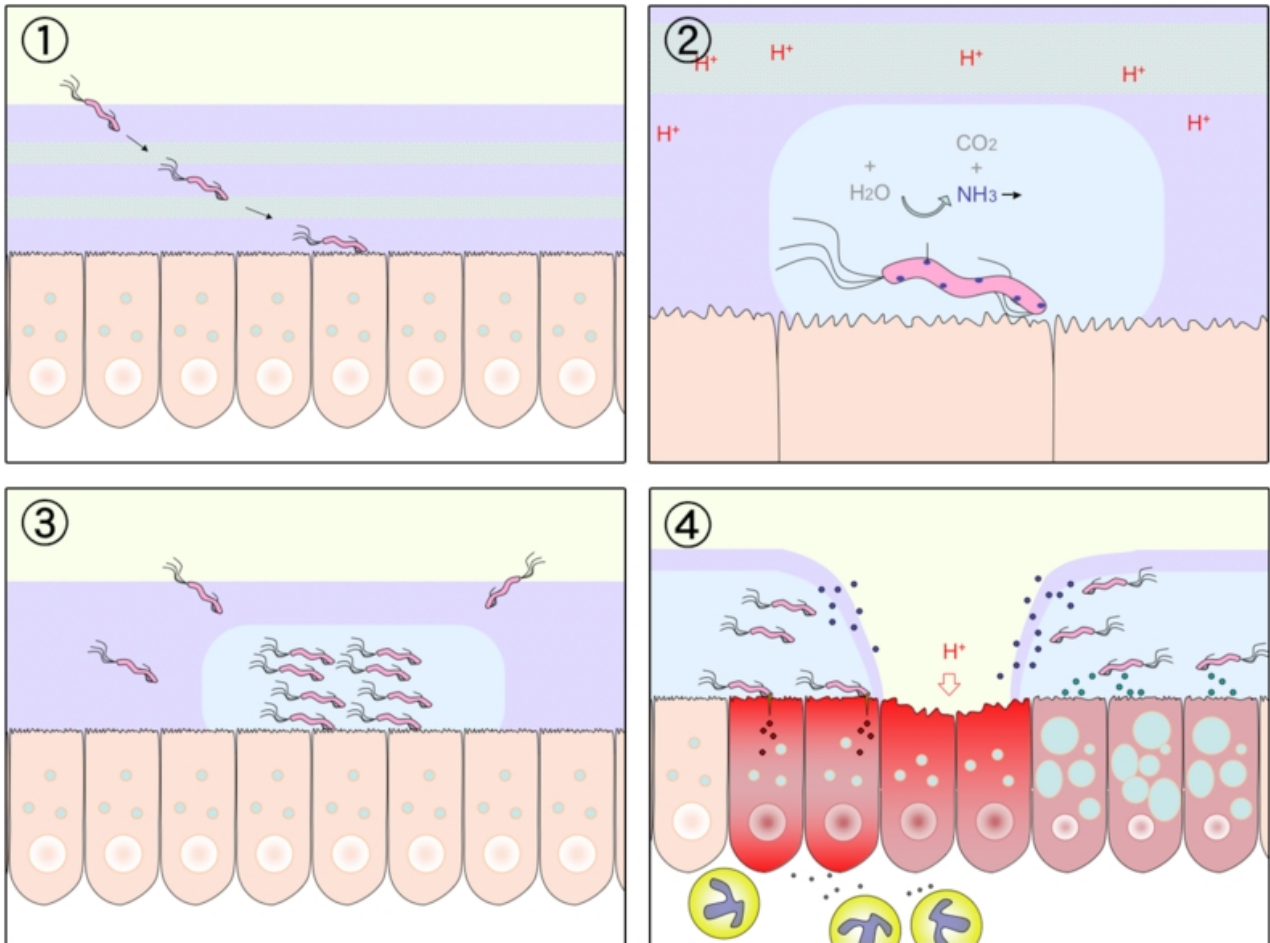
- farmaci.
- fattori comportamentali quali:
 - stress.
 - fumo.
 - alimentazione sbagliata.
- ma è SOPRATTUTTO LEGATA A QUESTO BATTERIO.

SI TRATTA DI UN MICROORGANISMO CAPACE DI VIVERE IN AMBIENTE GASTRICO, e quindi di sopportare pH estremi, di 2: tale batterio SOPRAVVIVE IN QUANTO POSSIEDE UN ENZIMA DETTO UREASI CHE DEGRADA L'UREA PRODUCENDO AMMONIACA fondamentalmente la cui AZIONE BASICA GLI CONSENTE DI STAZIONARE SULLA PARETE ERODENDOLA.

La reazione catalizzata dalla ureasi è la seguente:



fondamentalmente il quadro patologico si sviluppa in questo modo:



Questo batterio si può localizzare:

- vicino alla parete delle cellule della mucosa gastrica.
- Tra le cellule della mucosa gastrica.
- In alcuni casi all'interno delle cellule della mucosa gastrica.

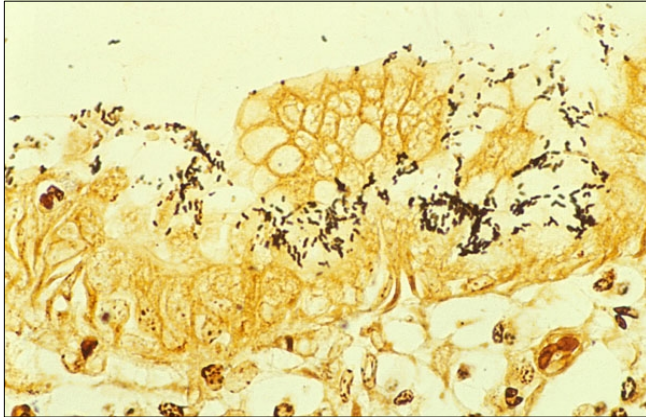
SFRUTTA UN MECCANISMO CHEMIOTATTICO PER EVITARE IL CONTATTO CON L'AMBIENTE ACIDO DELLO STOMACO: fondamentalmente percepisce tramite sensori l'acidità dell'ambiente che lo circonda per portarsi eventualmente in maggiore profondità nel muco gastrico prodotto dalle cellule epiteliali.

Per quanto riguarda la capacità patogenetica di questo batterio ricordiamo che:

- lo ione ammonio prodotto dalla reazione della ammoniaca prodotta dalla ureasi e il pH acido è dannoso per le cellule gastriche.

- Produce proteasi.
- Produce una tossina appositiva.
- Produce anche alcune fosfolipasi.

Danneggia attivamente la mucosa gastrica.



Colonia di *Helicobacter Pylori* sulla mucosa gastrica: il microorganismo risulta molto ben visibile in contrasto alla colorazione chiara e sfumata della mucosa. A sinistra un'ulcera gastrica.

immagine tratta da wikipedia
immagine tratta da wikipedia



INDIVIDUAZIONE:

per quanto riguarda la individuazione di questo tipo di batterio possiamo sottolineare due tipologie metodicamente molto diverse:

- metodi NON INVASIVI:
 - UREA BREATH TEST: si utilizza urea marcata che:
 - viene fatta ingerire al soggetto.
 - in presenza di *Helicobacter* viene degradata producendo CO₂ radioattiva.
 - la CO₂ radioattiva viene ricercata quindi nel respiro del paziente
 - METODI SIEROLOGICI che si basano sulla ricerca di anticorpi, non molto utili.
 - RICERCA NELLE FECE: si tratta di un metodo non molto sicuro dal punto di vista diagnostico.
- metodi INVASIVI per cui si utilizza fondamentalmente una GASTROSCOPIA che consente una OSSERVAZIONE DIRETTA DELLA EVENTUALE LESIONE e un PRELIEVO; a questo punto è possibile seguire tre diverse vie:
 - metodo ISTOLOGICO di competenza anatomopatologica.
 - metodo COLTURALE: coltivare tale batterio è utile per determinare se vi siano o meno delle ANTIBIOTICO RESISTENZE.
 - test RAPIDO DI UREASI: si inserisce il batterio in un campione di urea con indicatori ACIDO-BASE, se il batterio è presente, renderà basico l'ambiente di coltura.

Per quanto riguarda la coltivazione di questo batterio ricordiamo:

- si esegue una semina in un terreno abbastanza ricco come:
 - agar cioccolato, che presenta una colorazione marrone per la presenza di sangue cotto.
 - skirrow.
 - Columbia, molto spesso al fine di utilizzare dischetti per antibiogramma.
- In ogni caso SONO NECESSARIE ATMOSFERE CONTROLLATISSIME in quanto il

batterio in questione è microaerofilo.

- Per quanto riguarda la osservazione in microscopia si utilizzano coloranti quali GRAM E GIEMSA.
- È possibile eseguire anche in questo caso un test di ureasi rapida.

LA VIRULENZA:

non tutti i ceppi di *Helicobacter pylori* sono ugualmente virulenti; nel corso degli ultimi studi una buona parte della patogenicità di questo batterio è stata associata a due geni fondamentali:

- CAG.
- VAC.

SI PENSA IN OGNI CASO AD UN'ISOLA DI PATOGENICITÀ cioè una serie di sequenze geniche che contribuiscono al livello di patogenicità di questo batterio poste in sequenza o in vicinanza tra loro.

È importante sottolineare da questo punto di vista che l'ulcera generata da questo batterio provoca un incremento della attività proliferativa della mucosa e di conseguenza può essere associata a CARCINOMI.

TERAPIA:

la terapia si basa su farmaci quali:

- omoprazolo: inibitore delle pompe protoniche delle cellule parietali gastriche, essenziale per limitare il danno tissutale.
- amoxicillina o in alternativa dei macrolidi come la claritromicina.
- Metrinidazolo in forma di FLAGYL, si tratta di una molecola antiinfettiva utilissima contro batteri anaerobi e microaerofili.

CAMPYLOBACTER:

si tratta di batteri dalle seguenti caratteristiche:

- piccoli bastoncini curvi elicoidali.
- gram negativi.
- mobili per la presenza di flagelli polari.
- asporigeni
- microaerofili: sopravvivono unicamente in atmosfere al 5% di O₂.
- non fermentanti.

Possiamo ricordare due tipi di CAMPYLOBACTER:

- JEJUNI che può causare enteriti.
- COLI che può causare enteriti.
- FETUS sottospecie FETUS che nel paziente immunodepresso può provocare sepsi.

Fondamentalmente LA ENDOTOSSINA DI QUESTI BATTERI porta ad una erosione della mucosa e eventualmente alla perdita di GLOBULI ROSSI nelle feci: SI TRATTA DI UNA TOSSINA,



Campylobacter al microscopio elettronico. Questo batterio, negli stati uniti, è una delle cause principali di patologie dell'apparato gastroenterico legate alla assunzione di alimenti.

QUINDI, SHIGA LIKE molto probabilmente¹. Risulta associato anche a:

- infiammazioni periodontali.
- Hemolytic uremic syndrome.
- Porpora trombotica trombocitopenica.

Tramite meccanismi che devono essere ancora chiariti completamente.

IN LABORATORIO:

si coltiva tranquillamente, difficilmente si ricerca nelle feci tramite microscopia in quanto è fondamentalmente indistinguibile dalle altre specie gram negative.

¹ L'identificazione di questa tossina è ancora dubbia.

I MICOBATTERI:

Si tratta di microorganismi strutturalmente molto particolari:

- bastoncini alcool acido resistenti: non sono classificabili sulla base del metodo di gram per la particolarità della loro parete cellulare.
- non si muovono.
- non producono spore.
- sono aerobi obbligati.
- spesso crescono molto lentamente: replicano generalmente in venti ore, per avere una colonia in coltura, quindi, è necessario aspettare 30-40 giorni. fanno eccezione alcuni gruppi a crescita relativamente rapida.
- producono spesso pigmenti.

sono molto numerosi, possiamo identificare due sottogruppi significativi:

- MYCOBATTERI CLASSICI all'interno dei quali possiamo riconoscere:
 - mycobacterium lepre, agente eziologico della lebbra.
 - mycobacterium tuberculosis, agente eziologico della tubercolosi.
 - mycobacterium bovis che provoca una tubercolosi quasi indistinguibile da quella del mycobacterium tuberculosis. Si tratta di un patogeno relativamente raro in quanto veicolato da bovini: la tubercolosi bovina è oggi molto rara sia per la profilassi sia per l'abbattimento dei capi infetti.
 - mycobacterium ulcerans che non si trova alle nostre latitudini ma solo nei paesi caldi.
 - mycobacterium africanum: si tratta di un mycobacterium tuberculosis africano, indistinguibile dal mycobacterium tuberculosis normale a livello molecolare.
- MYCOBATTERI ATIPICI, furono classificati da Runyon in quattro gruppi sulla base di due caratteristiche:
 - velocità di crescita.
 - Capacità di produrre pigmenti.risultano quindi classificabili in quattro grandi gruppi:
 - I a crescita lenta e capacità di pigmentazione solo in presenza di luce.
 - II a crescita lenta e capacità di pigmentazione solo al buio.
 - III a crescita lenta non pigmentante.
 - IV a crescita rapida.

questi batteri raramente danno problemi a livello clinico. Possiamo ricordare il MYCOBACTERIUM AVIUM INTRACELLULARE che colpisce SOPRATTUTTO, se non esclusivamente, MALATI TERMINALI DI AIDS provocando infezioni sistemiche ubiquitarie. Tali infezioni sono in diminuzione grazie alle nuove terapie di contrasto per l'HIV.

LA PARETE DEI MYCOBATTERI:

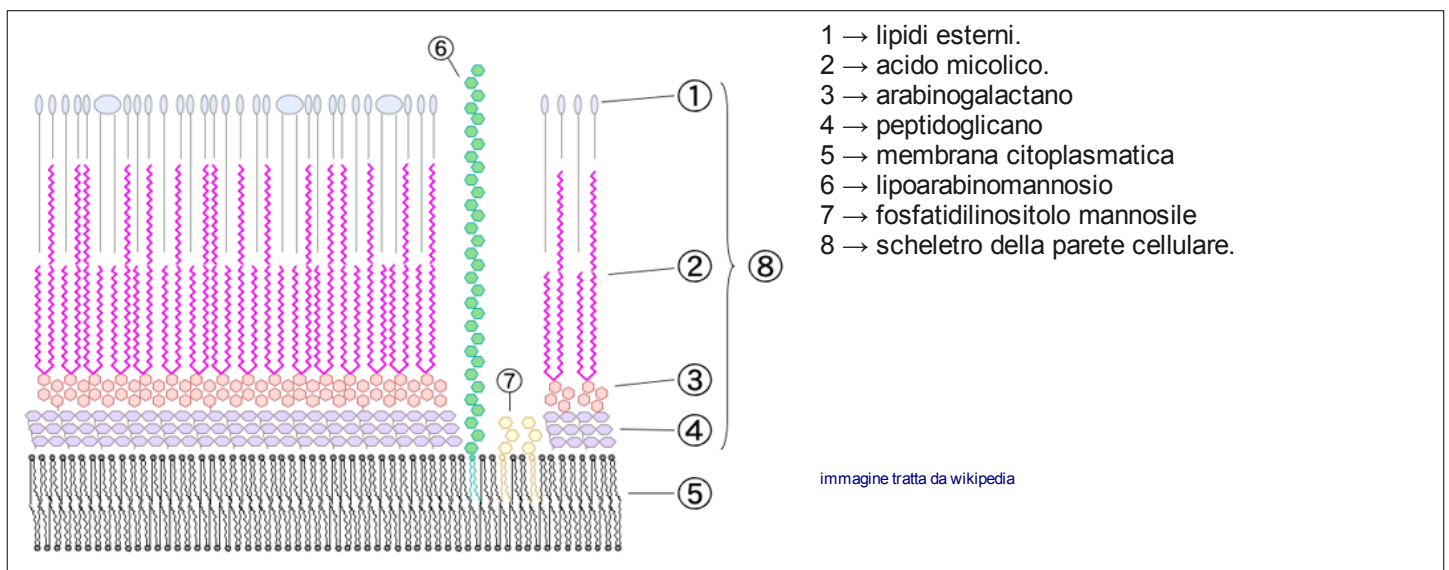
presentano una struttura peculiare rispetto ai normali batteri, dall'interno all'esterno possiamo riconoscere:

- componente lipidica.
- Arabinogalattano.

- peptidoglicano
- mannosofosfatidilinositolo.
- membrana cellulare.

COMPONENTI FONDAMENTALI anche dal punto di vista del loro ruolo biologico DELLE COMPONENTI LIPIDICHE SONO:

- CERE: si tratta di ACIDI MICOLICI ESTERIFICATI CON GLICOLIPIDI FENOLICI.
- MICOSIDI come il 6-6 dimicolil trealosio o FATTORE CORDALE: tale fattore viene prodotto da mycobatteri particolarmente virulenti le cui colonie assumono un aspetto a coda. I batteri dotati di questo tipo di fattore sono capaci di:
 - bloccare la migrazione leucocitaria.
 - stimolare la formazione del granuloma.
 - distruggere le membrane mitocondriali.
 - inibire la fusione fagosoma-lisosoma: il batterio sopravvive all'interno di un fagosoma nella cellula che non viene fuso con il lisosoma provocando seri danni.
- SULFATIDI che sono dei glicolipidi solforati; potenziano la azione dei MICOSIDI.



LA TUBERCOLOSI:

la tubercolosi è una patologia strettamente correlata alle condizioni di vita del paziente tanto che è andata, e lo stesso sarebbe successo in assenza di antibiotici, anche se non ad una tale velocità, diminuendo nettamente nel tempo. Ricordiamo infatti che:

- la dieta.
- la vita in case accoglienti, calde e non umide.
- la vita in ambienti non affollati.

Sono fattori protettivi fondamentali contro questo tipo di patogeni.

- Si trattava fondamentalmente di una malattia dei POVERI.
- oggi riemerge in modo significativo a causa dell'HIV, si tratta generalmente di una delle PRIME INFEZIONI OPPORTUNISTICHE che si riscontrano.



Colonie di mycobacterium tuberculosis (a sinistra) e visualizzazione al microscopio di mycobacterium tuberculosis in espettorato (a destra) in rosso.



immagine tratta da wikipedia
immagine tratta da wikipedia

Ad oggi si tratta di una malattia dei paesi poveri soprattutto, ma nel passato nel nostro paese e in altri paesi del mondo esistevano degli OSPEDALI APPOSITI detti SANATORI:

- dotati di grandi giardini, infatti il paziente deambula senza problemi.
- Con grandi stanze con terrazze di modo da ridurre al minimo l'affollamento.
- Dotati di tutti i comfort possibili.

Oggi grazie alle terapie ANTIBIOTICHE LA TUBERCOLOSI SI CURA IN CASA, si tratta infatti di una SILICOSI, una FIBROSI POLMONARE, che porta, in taluni casi, alla morte del paziente per insufficienza respiratoria, ma se monitorata e controllata, si risolve senza problemi.

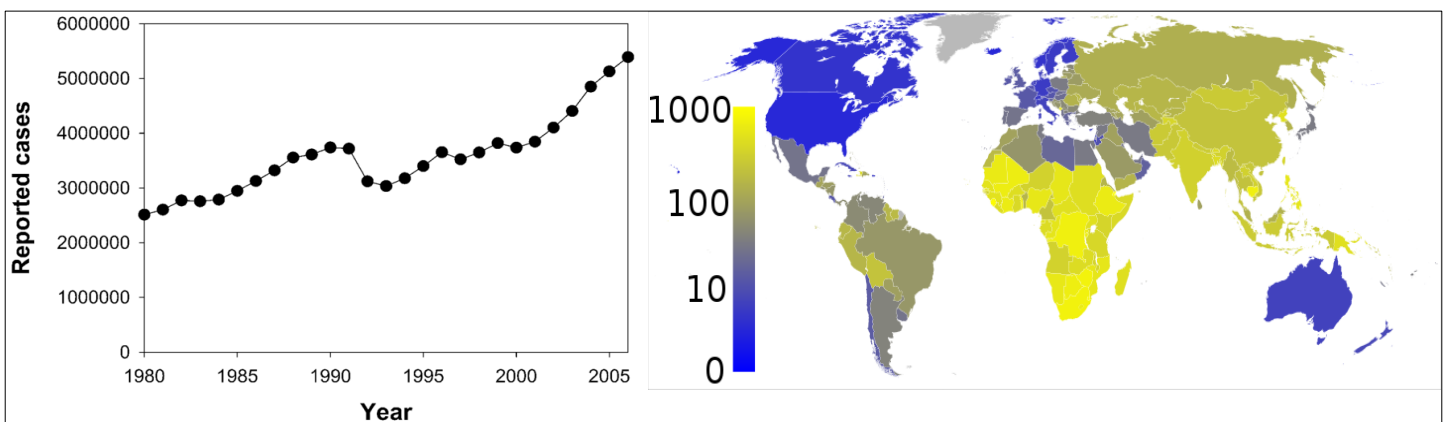


immagine e dati tratti da wikipedia immagine e dati tratti da wikipedia

Come emerge dai dati della WHO i casi di tubercolosi sono andati aumentando negli ultimi 20 anni a causa della epidemia, soprattutto nel sud del mondo, come dimostra la distribuzione della patologia tubercolare stessa, dell'HIV.

L'INFEZIONE:

- il mycobatterio si trasmette per via AEREA.
- raggiunge l'alveolo dove si moltiplica formando il cosiddetto COMPLESSO PRIMARIO O COMPLESSO DI GHON caratterizzato da:
 - ALVEOLITE.
 - LINFOADENITE.
- Questo tipo di patologia:
 - nel 90% DEI CASI O PIÙ VA INCONTRO A GUARIGIONE DIRETTA; fondamentale:

- si ha la formazione di un complesso calcificato a livello polmonare.
- il paziente non realizza nemmeno di essere stato malato.

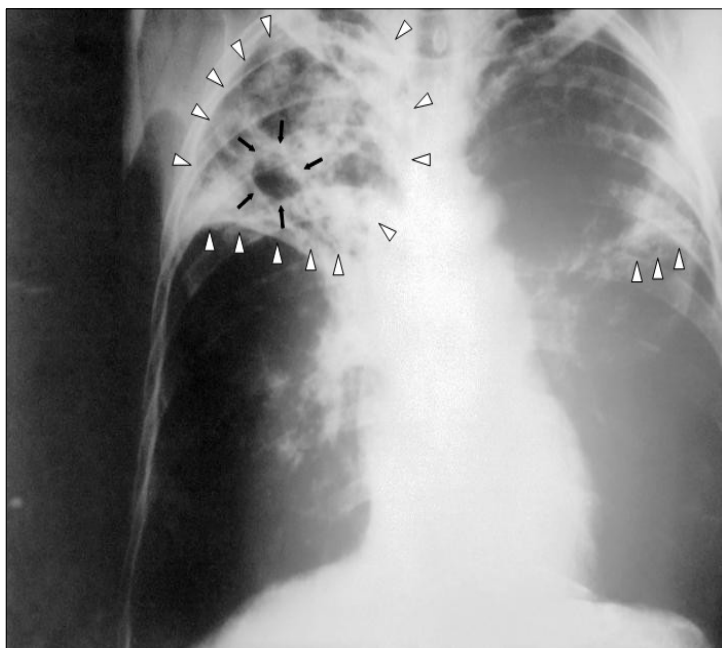
La calcificazione assume le dimensioni anche di una MONETA e risulta chiaramente visibile a seguito di analisi più accurate.

- nel 10% DEI CASI o meno IL COMPLESSO NON GUARISCE E PROGREDISCE generando una TUBERCOLOSI PRIMARIA PROGRESSIVA.

IL COMPLESSO PRIMARIO:

il micobatterio viene inglobato da un macrofago alveolare e sopravvive grazie alla sua capacità di inibire la formazione di complessi fagosoma lisosoma; all'interno della cellula:

- il mycobatterio si moltiplica infettando anche altri macrofagi che vengono richiamati chemiotatticamente fino a formare un NOCCIOLO DI MACROFAGI INFETTATI.
- questo complesso si INGROSSA per il richiamo di numerosi fagociti.
- si forma UN TUBERCOLO:
 - di dimensioni considerevoli.
 - con un nucleo NECROTICO caratterizzato da NECROSI CASEOSA.
- è composto e strutturato generalmente in questo modo:
 - leucociti mononucleati.
 - cellule epitelioidi.
 - cellule giganti mononucleate (cellule di langherans).
 - Risulta circoscritto e sostenuto da una reazione connettivale legata alla attività di FIBROBLASTI.
- a seguito della necrosi SI HA UNA PRECIPITAZIONE DI SALI DI CALCIO CHE PORTA ALLA FORMAZIONE DI COMPLESSO CALCIFICATO.



Rx toracica bilaterale che evidenzia la presenza di lesioni dovute alla tubercolosi su entrambi i polmoni.

immagine tratta da wikipedia

LA TUBERCOLOSI CAVITARIA SECONDARIA

IL COMPLESSO CALCIFICATO può ospitare, anche a seguito della completa guarigione, BATTERI ANCORA VIVI o CON IL SOVRAPPORSI DI UNA SECONDA INFEZIONE TUBERCOLARE può scaturire una TUBERCOLOSI SECONDARIA CAVITARIA, non distinguibile da una normale tubercolosi. La riemersione della patologia è spesso causata da un calo delle difese immunitarie:

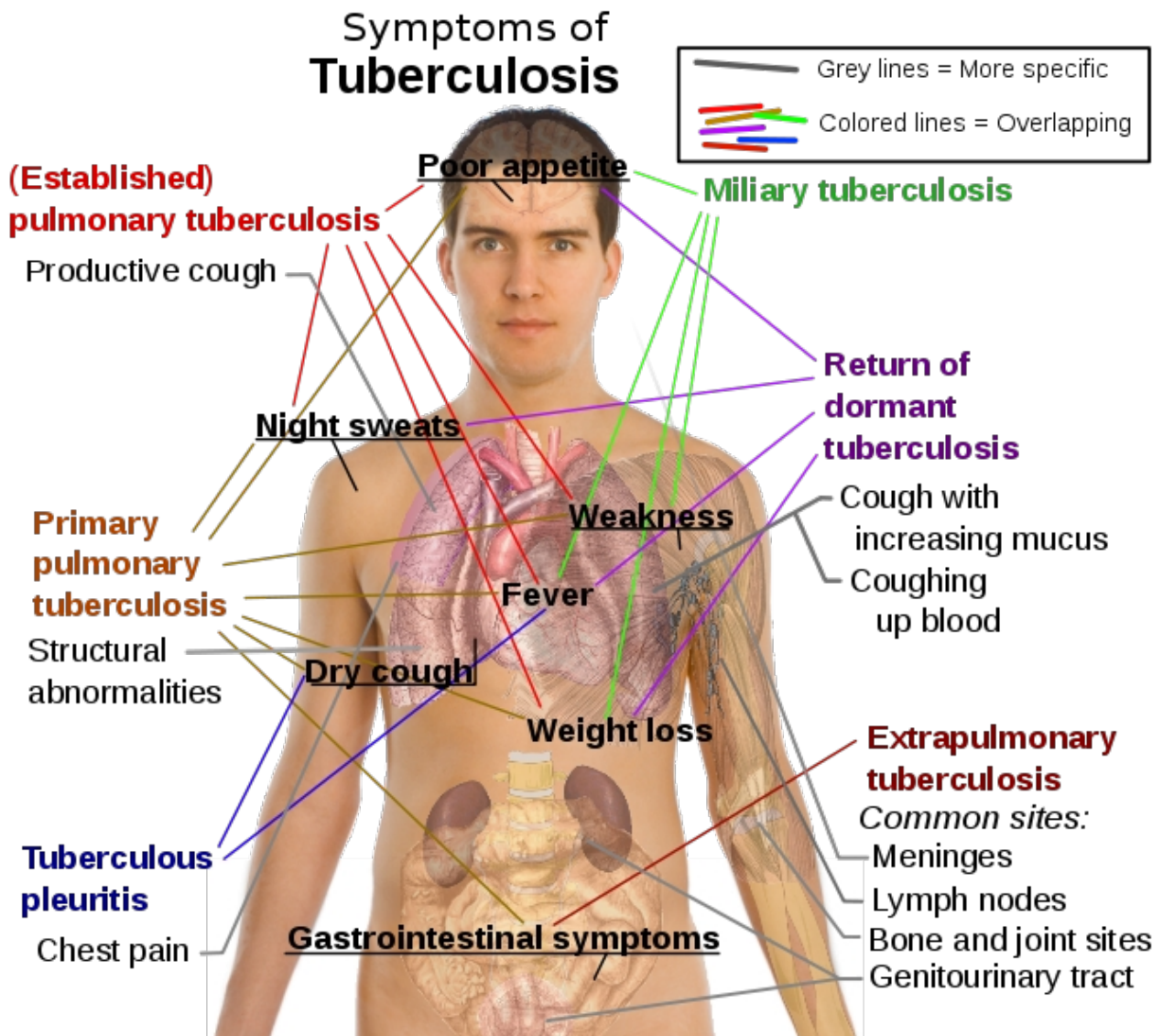
- AIDS per questo i casi son molto aumentati negli ultimi anni.
- Immunodepressione.

Una seconda infezione può essere causata da una perdita della immunizzazione acquisita in prima battuta.

LA TUBERCOLOSI CAVITARIA PRIMARIA:

la NECROSI CASEARIA avviene generalmente per mancanza di vascolarizzazione del nucleo del tubercolo legata all'incremento della dimensione dello stesso; in ogni caso, a seconda della sua posizione, CRESCENDO IL TUBERCOLO PUÒ PORTARE A:

- ROTTURA DI UN BRONCO:
 - parziale ostruzione del bronco.
 - rottura della parete del bronco.nel momento in cui VI SIA UNA LESIONE DELLA PARETE, IL TUBERCOLO SI APRE NEL BRONCO E EMETTE MICOBATTERI NELLO STESSO CHE VENGONO CONTINUAMENTE ELIMINATI TRAMITE IL SISTEMA RESPIRATORIO.
- ROTTURA DI UN VASO che porta al riversarsi del batterio nel sangue verso altri organi portando alla formazione di una TUBERCOLOSI MILIARE. A questo punto il mycobatterio si porta a organi quali:
 - ALTRE REGIONI DEL POLMONE.
 - RENE dove non dà segnali evidenti, tuttavia:
 - sconvolge la architettura renale.
 - Il rene diviene coloso e non funzionante.
 - LE MENINGI dove provoca una meningite anomala a liquor SMERIGLIATO.
 - IL TESSUTO OSSEO SPUGNOSO dove può provocare il morbo di Pot: genera la erosione della struttura ossea di una vertebra che può portare al cedimento della stessa.
 - SURRENE.
 - FEGATO.
 - LINFONODI.



viene detta MILIARE in quanto il polmone del cadavere fondamentalmente è tanto pieno di granulomi da somigliare a miglio. Il paziente muore per insufficienza respiratoria.

LA DIAGNOSI:

La diagnosi è spesso molto complessa in quanto il MICROORGANISMO CRESCE MOLTO LENTAMENTE, possiamo fondamentalmente sottolineare che esistono tre tipi di approccio diagnostico:

- esame microscopico.
- esame colturale.
- metodi molecolari.

OSSERVAZIONE DEL CAMPIONE:

Essendo la crescita molto lenta, affidandoci ad un esame colturale, dovremmo aspettare 40-50 giorni, L'ESAME MICROSCOPICO DIVIENE FONDAMENTALE e si esegue fondamentalmente in questo modo:

- COLORAZIONE DI ZIEHL NEELSEN in quanto il mycobatterio è difficilmente colorabile; prevede la fissazione di un colorante:

- la fucsina.
- a caldo.
- per sette minuti.

SI LAVA IL CAMPIONE e si aggiunge il DIFFERENZIATORE ALCOHOL E ACIDO: si tratta di una miscela che consente di differenziare tra i batteri presenti nel campione, spesso si utilizzano HCl 3% in alcool.

La funzione di tale miscela è quella di DECOLORARE TUTTO TRANNE I MICOBATTERI. Al termine di tale operazione:

- i micobatteri risultano rossi.
- Tutto il resto è incolore.

A questo punto si aggiunge BLU DI METILENE che colora tutto quanto trasparente

- OSSERVAZIONE che deve essere eseguita accuratamente:
 - per 30 minuti.
 - in ambiente buio.
 - in solitudine.

- In ogni caso SI REFERTA BASTONCINO ALCOHOL ACIDO RESISTENTE, cioè micobatterio, non è infatti possibile dare indicazioni più precise.

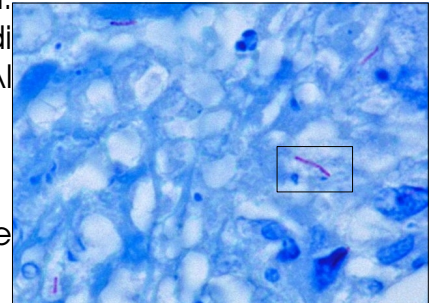
ESAME COLTURALE:

- si esegue sul PRELIEVO DELL'ESPETTORATO che, chiaramente, attraversa le vie respiratorie arricchendosi di batteri con capacità proliferative consistenti; questi batteri devono essere ELIMINATI in quanto altererebbero la crescita del micobatterio eliminando tutte le risorse disponibili; tale operazione si esegue in questo modo:
 - NaOH 1N per alcuni minuti: in questo modo si eliminano tutti i batteri tranne i micobatteri presenti nel mezzo.
 - Si utilizza dell'HCl per riportare il campione a pH 7, in caso contrario morirebbe anche il micobatterio.
 - Si esegue una centrifugazione.
 - si mette in coltura il deposito per 30-40 giorni.
- I TERRENI CHE SI POSSONO UTILIZZARE SONO:
 - IUTM.
 - Lowenstein Jensen.
 - Petragani.
 - Middlebrook 7H10-7H11.

Si possono utilizzare dei metodi per accelerare i processi di crescita e riconoscimento come per esempio un BACTEC RADIOMETRICO:

- si utilizza un TERRENO LIQUIDO di tipo 7H12.
- si inserisce una sostanza radioattiva come ACIDO PALMITICO marcato con C14.
- viene prodotta della CO2 RADIOATTIVA che risulta visibile tramite appositi metodi.

Questo test INDIVIDUA LA PRESENZA DI UN BATTERIO CAPACE DI CATABOLIZZARE IL



Mycobacterium tuberculosis in rosso su tessuto colorato in blu con la colorazione di ZIEHL NEELSEN
immagine tratta da wikipedia

PALMITATO e risulta positivo in 10-15 giorni. A questo punto SE IL RISULTATO È POSITIVO il campione:

- VIENE INOCULATO IN UN SISTEMA BACTEC NAP capace di inibire la crescita batterica unicamente del MYCOBACTERIUM TUBERCOLOSIS.
- se si tratta del mycobacterium tuberculosis, dopo sette giorni non vi sarà alcuna crescita nel campione.

SI POSSONO UTILIZZARE ANCHE SISTEMI MOLECOLARI come la ricerca di sequenze geniche.

IL TEST DELLA TUBERCOLINA:

si tratta di un test non particolarmente significativo in quanto indica che UNA PERSONA È STATA A CONTATTO CON IL MYCOBACTERIUM TUBERCOLOSIS, viene definita tubercolina in quanto un tempo si inoculava sottocute il brodo di crescita dei micobatteri stessi. Oggi:

- si inocula PPD protein purified derivative.
- Il risultato viene valutato dopo 48-72 ore, se positivo la reazione sarà visibile come:
 - gonfiore.
 - indurimento.

LA TERAPIA FARMACOLOGICA:

si tratta di una miscela di farmaci che agisce unicamente su mycobatteri:

- ISONIAZIDE: agisce INIBENDO LA SINTESI DI ACIDI MICOLICI essenziali per la costituzione della membrana di questo tipo di batteri. È un farmaco estremamente specifico.
- STREPTOMICINA: fu il farmaco che per primo consentì di limitare attivamente le infezioni causate da tali batteri, si tratta di un AMMINOGLICOSIDICO, risulta OTO e NEFRO TOSSICO.
- RIFAMPICINA che blocca la sintesi dell'RNA inibendo la RNA POLIMERASI DNA DIPENDENTE, si tratta del secondo farmaco che contribuì in modo essenziale alla eliminazione di tali batteri.
- Etambutolo.
- Pirazinamide che analogamente alla ISONIAZIDE inibisce la sintesi di acidi micolici.

LA TERAPIA IN OGNI CASO PREVEDE:

- l'utilizzo di due o tre farmaci contemporaneamente.
- dopo un primo periodo di OSPEDALIZZAZIONE si esegue LA TERAPIA A DOMICILIO: mentre un tempo erano molto attivi i DISPENSARI, dove il paziente andava a prelevare i farmaci e ad eseguire alcuni controlli di routine, OGGI LA TERAPIA IN CASA PUÒ DIVENIRE PERICOLOSA PER PAZIENTI NON DISCIPLINATI E NON CONTROLLATI.
- la terapia è lunga, dura circa 9 mesi: DURANTE UN PERIODO TANTO LUNGO UN FARMACO PUÒ FALLIRE per questo si utilizzano diversi farmaci contemporaneamente.
- la contagiosità è estremamente relativa e relazionata al successo della terapia: risulta valutabile unicamente tramite l'esame dell'espettorato.

LA VACCINAZIONE:



si utilizza un microorganismo vivo:

- non da una copertura completa.
- può avere delle complicazioni legate alla insorgenza di granulomi.

Fondamentalmente provoca una tubercolosi locale.

IL MICOBACTERIUM LEPRE:

Agente eziologico della LEBBRA o MALATTIA DI HANSEN, oggi si tratta di una malattia curabile molto facilmente ancora grazie alla RIFAMPICINA. Se trascurata diviene una malattia MUTILANTE E SE NON CURATA PORTA ALLA MORTE DEL PAZIENTE. Si tratta di una malattia:

- diffusa al SUD DEL MONDO.
- In Italia esistono due ospedali (il S.Martino di Genova e uno a Napoli) dove questi pazienti vengono ricoverati e curati.
- Presenta un impatto sociale ed emotivo molto significativo in quanto si pensa PRESENTI UNA ELEVATA CONTAGIOSITÀ, cosa che non avviene in realtà tanto che i missionari potevano restarne immuni per anni.

La lebbra è anzitutto una malattia GRANULOMATOSA DEI NERVI, DELLE MUCOSE E DEI TRATTI SUPERIORI DELL'APPARATO RESPIRATORIO.

La lebbra presenta due manifestazioni:

1. cutanea.
2. nervosa dove da anestesia: si tratta della prima manifestazione generalmente.

Un tipico quadro legato alle lesioni cutanee è la FACESI LEONINA: si tratta della conseguenza della lesione cutanea e cartilaginea delle strutture nasali che porta alla assunzione di una fisionomia leonina.

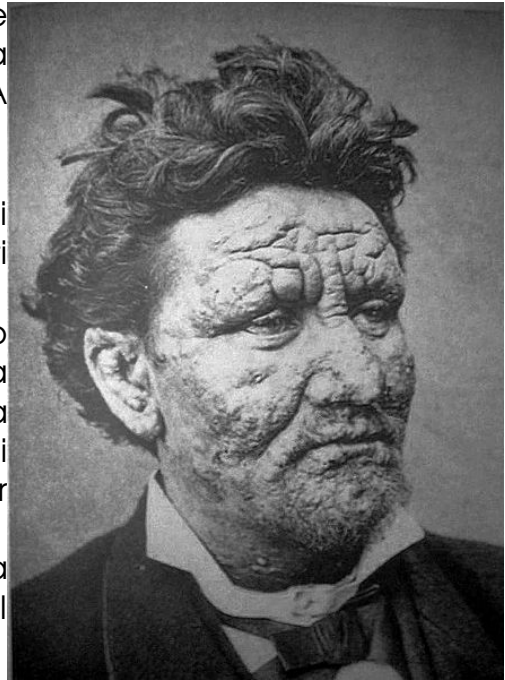
Distinguiamo due tipologie di lebbra, come emerge dalla tabella:

- LEBBRA TUBERCOLOIDE, si tratta della prima fase, caratterizzata a livello immunitario da:
 - forte reazione cellulo mediata.
 - scarsa risposta anticorpale.

In questa fase si hanno poche lesioni eritematose, possiamo dire che il sintomo principale è sicuramente, in questo caso, la ANESTESIA PERIFERICA; si può osservare un ingrossamento delle strutture nervose. In questa fase della infezione:

- sono poco presenti i bacilli acido alchool resistenti.
- Il soggetto È MOLTO POCO CONTAGIOSO.
- LEBBRA LEPRMATOSA caratterizzata:
 - forte reazione anticorpale.
 - scarsa risposta cellulo mediata.

Si tratta della fase SUCCESSIVA alla lebbra tubercoloide, possiamo dire che



durante questa fase:

- si ha un forte interessamento cutaneo e non solo con distruzione tissutale diffusa associata a naso, orecchie ed estremità in generale.
- Il coinvolgimento delle strutture nervose è massiccio.
- Le strutture nervose non sono rigonfie come nella fase precedente.

Durante questa fase:

- sono presenti molti bastoncini.
- La CONTAGIOSITÀ È MOLTO ELEVATA.

Si tratta di due manifestazioni differenti della medesima patologia: possono non essere tra loro consecutive naturalmente, ma esiste una tendenza della patologia tubercoloide a divenire lepromatosa.

STADIO	LESIONI CUTANEE	LESIONI NERVOSE
full tuberculoid	poche lesioni eritematose granulomi contenenti cellule giganti	uno o più nervi infiltrati perdita delle sensazioni
borderline tuberculoid		
borderline	lesioni maggiori a livello della cute	incremento delle strutture nervose lese il danno è meno grave ma distribuito
borderline lepromatous		
lepromatous	numerosa lesioni distribuite sulla cute ulcerazione nasale e degradazione del setto	molto diffusa con notevoli perdite di sensibilità

si tratta di una MALATTIA SISTEMICA CHE SI TRASMETTE PER VIA AEREA generalmente, MA ANCHE PER ALTRE VIE, permane di norma POCO CONTAGIOSA anche nelle fasi di massima contagiosità. Questa malattia presenta un periodo di INCUBAZIONE ESTREMAMENTE LUNGO, ANCHE DI 2-5 ANNI, si sono registrati dei casi di incubazioni anche ventennali.

Il tempo di guarigione è molto lungo il batterio metabolizza ancora meno.

LA TERAPIA:

si esegue generalmente una terapia antibiotica di questo tenore:

- clofazimina 50mg/die.
- dapsons 100mg/die.
- rifampicina 600mg/mese.

Analogamente alla terapia per la tubercolosi anche la terapia per la lebbra è molto lunga, dura intorno ai due anni.

A livello laboratoristico generalmente si eseguono osservazioni al microscopio.

LE NEISSERIE

si tratta di:

- cocchi gram negativi che tendono a disporsi in coppie e detti quindi diplococchi.
- capsulati quasi sempre.
- abbastanza dinamici dal punto di vista metabolico, possono essere aerobi anaerobi facoltativi.
- non producono spore.
- sono immobili.
- si presentano ossidasi positivi.

presentano un enorme numero di fimbrie: sono infatti batteri fortemente adesivi.

Nel genere neisseria possiamo identificare una enorme quantità di microorganismi dalle caratteristiche molto diverse, ma fondamentalmente classificabili in due grandi categorie:

- NEISSERIE PATOGENE che sono fondamentalmente due:
 - GONOCOCCO O NEISSERIA GONORREE.
 - MENINGOCOCCO O NEISSERIA MENINGITIDIS.
- NEISSERIE COMMENSALI, sono microorganismi che difficilmente danno luogo ad infezioni opportunistiche e che sono normalmente presenti a livello del cavo orale; ricordiamo:
 - Neisseria sicca.
 - Neisseria subflava.
 - Neisseria flavescens.
 - Neisseria mucosa.

si tratta in ogni caso, almeno per le neisserie commensali, di microorganismi relativamente docili dal punto di vista antibiotico e per aggressività.

NEISSERIA GONORREE:

si tratta di un batterio particolare, è infatti un parassita intracellulare facoltativo.

la GONORREA è UNA MALATTIA:

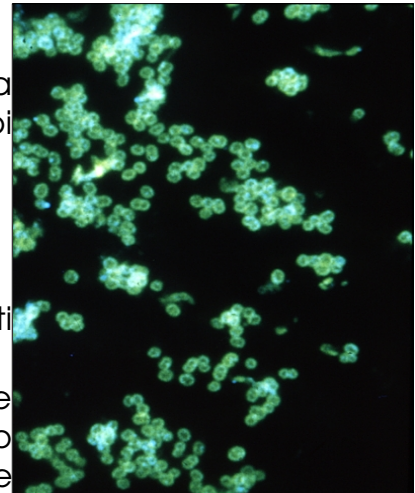
- sessualmente trasmissibile.
- venerea.

caratterizzata da modalità di manifestazione decisamente diverse tra uomo e donna.

LA GONORREA NEL MASCHIO:

si tratta di una patologia che si acquisisce tramite un rapporto non protetto con partner infetta, la femmina, come vedremo, può infatti non sapere di essere malata. Fondamentalmente a seguito del contatto il batterio si comporta in questo modo:

- il microorganismo si pianta sull'epitelio colonnare della uretra anteriore.



Campione di neisseria gonorree colorato grazie a tecniche di immunofluorescenza.
immagine tratta da wikipedia0

- dopo 2-5 giorni compare si manifesta come una URETRITE PURULENTA caratterizzata da:
 - secrezione di una enorme quantità di pus, fino a 100ml al giorno, attraverso l'orifizio uretrale esterno.
 - disuria.tale patologia viene definita volgarmente scolo proprio per la enorme quantità di pus che viene eliminato.
- complicanze anche se rare possibili possono essere:
 - epididimite.
 - prostatite.
 - stenosi uretrale cicatriziale.

naturalmente a seguito di un contagio e alle prime manifestazione la patologia si palesa in modo tale che il paziente consulta immediatamente il proprio medico che, riconosciuta la malattia, prescrive una adeguata terapia antibiotica evitando qualsiasi complicanza.

LA GONORREA NELLA DONNA:

la donna affetta da questo tipo di patologia è PAUCISINTOMATICA, presenta generalmente sintomi attenuati o poco riconoscibili quali:

- pedite vaginali.
- disuria.
- dolori addominali.

per queste pazienti sono molto più frequenti complicanze clinicamente rilevanti in quanto i sintomi possono essere facilmente trascurati. Il microbo allarga la sua infezione:

- alla cervice uterina.
- alle ghiandole del Bartolini e di Skene.
- si può portare alle tube e alle strutture ovariche dove:
 - porta a salpingite che può addirittura complicarsi a:
 - stenosi della tuba uterina.
 - eventuale sterilità.
 - ascessi tubo-ovarici.
 - malattia infiammatoria pelvica.
- da queste infezioni possono scaturire anche delle complicazioni SISTEMICHE quali:
 - artrite settica per cui l'articolazione presenta tutti i segni tipici della flogosi.
 - cute.
 - endocardite.
 - meningite.

LA GONORREA IN ETÀ PREPUBERALE:

è possibile che una patologia di questo tipo nasca da una scarsa igiene legata soprattutto all'uso promiscuo di asciugamani, tuttavia, soprattutto in età prepuberale, non sono da escludere episodi di violenza sessuale. La gonorrea prepuberale è molto rara, ma si tratta di casi che si possono verificare.

INFEZIONE CONGENITA DA GONOCOCCO:

Si tratta di una oftalmite purulenta che si verifica nel caso in cui la madre presenti una infezione, generalmente silente, da gonococco lungo il canale del parto. Assieme alla valutazione dell'apgar del neonato, si esegue anche la profilassi di credet: una disinfezione delle strutture oculari con derivati della penicillina.

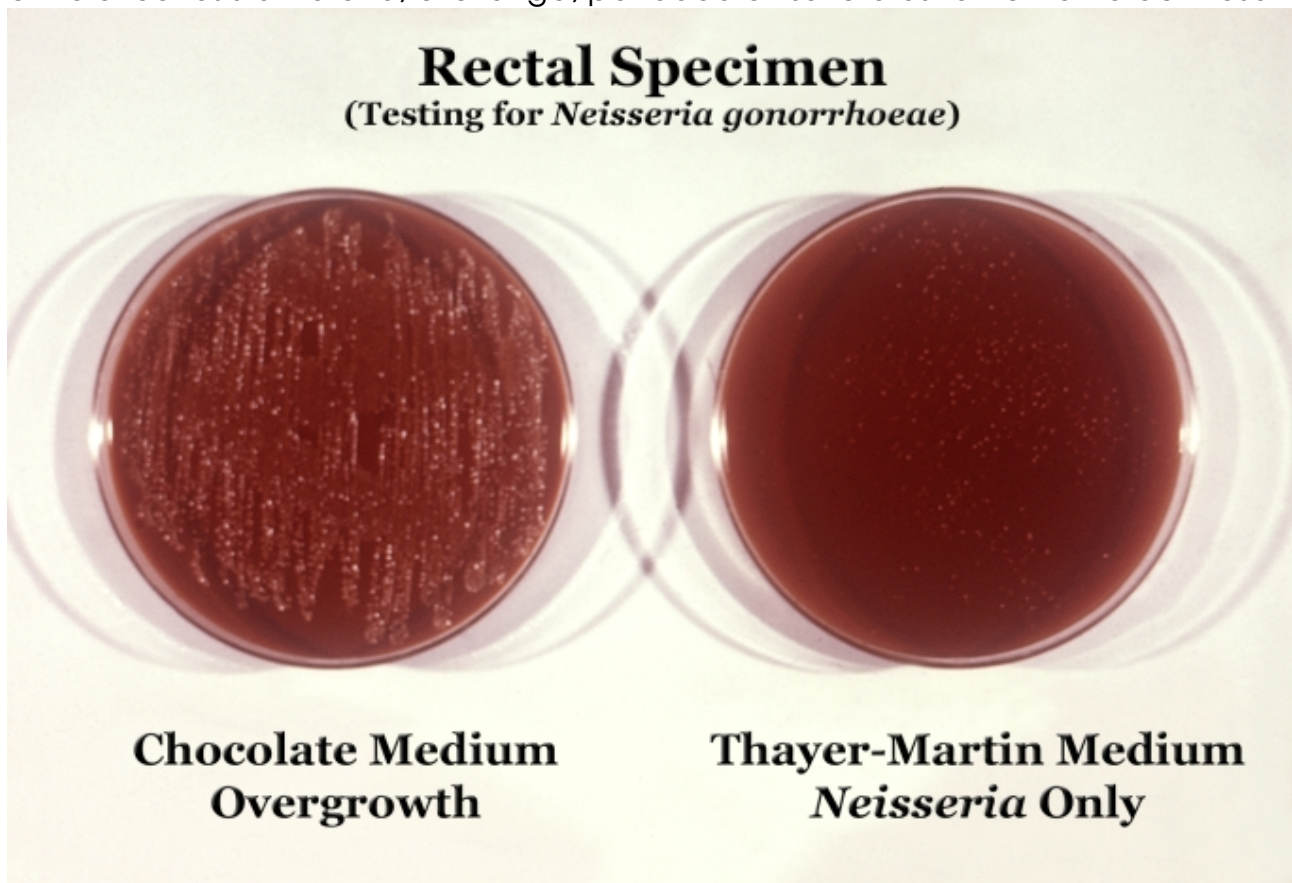
TERAPIA DELLA GONORREA:

si utilizza generalmente CEFTRIAXONE 250mg somministrato per via intramuscolo, è sufficiente una somministrazione e la patologia viene eliminata.

si possono utilizzare anche altri farmaci quali:

- cefitoxine
- cefotaxine

ad oggi si cerca di evitare la spectinomicina per non stimolare la formazione di antibiotico resistenze che, alla lunga, potrebbero risultare estremamente dannose.



NEISSERIA MENINGITIDIS:

si tratta sicuramente della neisseria più aggressiva.

ALCUNI CASI DI MENINGITE DA NEISSERIA MENGINEITIDIS:

giovane donna di 22 anni, per due giorni sta male, tanto da non riuscire ad andare al lavoro. La paziente viene trovata dalla madre a letto, confusa, agitata e febbricitante e viene ricoverata, all'arrivo in pronto soccorso è in coma. Presenta una porpora cutanea: viene immediatamente ricoverata e viene eseguito un esame del liquor che evidenzia segni di FLOGOSI. Inoltre

- all'esame microscopico si notano i diplococchi gram negativi.
- si eseguono esami colturali che fanno emergere la presenza di neisseria meningitidis.

la paziente morì nonostante la immediata terapia con penicillina.

Una bambina portata al pronto soccorso dell'ospedale, presenta vomito, tipico segno di ipertensione endocranica, febbre alta e un forte stato di sopore e rigidità nucale, altro tipico segno di meningite. A seguito di una rapida dimissione con diagnosi influenzale la bambina peggiora e torna in ospedale, viene fatta una corretta diagnosi di meningite e a seguito di terapia antibiotica, sopravvive ma con forti reliquati neurologici.

LA MENINGITE DA NEISSERIA MENINGITIDIS È UNA MENINGITE PURULENTA caratterizzata da:

- febbre.
- cefalea: è tanto forte che il paziente cerca di evitarla minimizzando i movimenti del collo, CHE PER QUESTO RISULTA RIGIDO.
- nausea e vomito tipici SEGNI DI UNA IPERTENSIONE ENDOCRANICA.
- ESANTEMA MACULO PAPULOSO.
- LESIONI NECROTICO EMORRAGICHE.
- SINDROME DI WATERHOUSE-FRIDERICHSEN.

La neisseria meningitidis si comporta normalmente in questo modo:

- SI IMPIANTA nella NASOFARINGE dove permane per i portatori sani (stimati intorno al 5-15% della popolazione) e dalla quale parte per coloro che stanno per essere colpiti dalla malattia.
- si porta al sangue generando una MENINGOCOCCHEMIA; a questo punto possiamo dire che le possibilità sono fondamentalmente tre:
 - può verificare una SETTICEMIA MENINGOCOCCICA che si complica a sindrome di WATERHOUSE-FRIDERICHSEN portando alla morte del paziente.
 - MENINGITE che si complica generalmente a sindrome di WATERHOUSE-FRIDERICHSEN portando alla morte del paziente.
 - il paziente viene POSTO SOTTO TRATTAMENTO, nonostante questo nel 10% dei casi può insorgere comunque la sindrome di WATERHOUSE-FRIDERICHSEN che porta alla morte del paziente.

Come sappiamo la sindrome in questione è causata dalla attività della endotossina del batterio che provoca una COAGULAZIONE INTRAVASCOLARE DISSEMINATA che si estrinseca in un INFARTO DELLA SURRENALE che a sua volta genera:

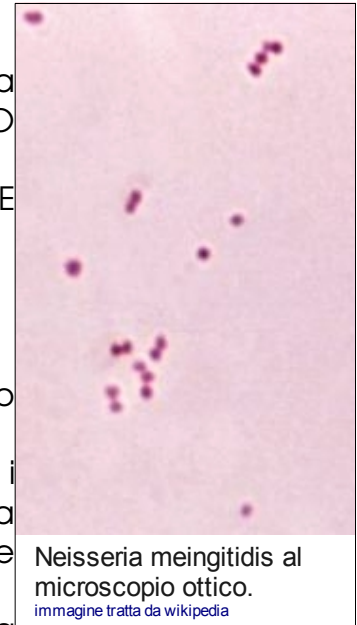
- un iniziale ipercorticosurrenalismo.
- un successivo ipocorticosurrenalismo.

portando alla morte del paziente.

FATTORI DI VIRULENZA DELLA NEISSERIA MENINGITIDIS:

la aggressività di questo microorganismo è legata al fatto che:

- produce enormi quantità di LPS che non contribuiscono tanto alla costruzione della membrana esterna, quanto piuttosto vengono riversate nel sangue del paziente.



Neisseria meningitidis al microscopio ottico.
immagine tratta da wikipedia

- sulla parete della NEISSERIA MENINGITIDIS troviamo anche UN LIPOOLIGOSACCARIDE la cui azione è POTENZIANTE LA ATTIVITÀ DELLA ENDOTOSSINA.

complessivamente possiamo dire che tale patologia presenta delle fasce di età ad incidenza maggiormente elevata:

- sono molto rare le infezioni da neisseria meningitidis prima dei sei mesi di vita: durante questo periodo, infatti, gli anticorpi materni hanno una forte funzione protettiva.
- dai sei mesi in poi comincia lo sviluppo di anticorpi propri del bambino:
 - DAI 6 AI 24 MESI SI PUÒ RISCONTRARE LA MAGGIOR PARTE DEI CASI: i soggetti non immunizzati entrano in contatto con il batterio che facilmente si porta a livello del sistema nervoso dove provoca meningiti anche letali.
 - A 20 ANNI, con il servizio militare, fino a qualche anno fa, NEI MASCHI INCREMENTAVA IN MODO NOTEVOLE LA POSSIBILITÀ DI CONTAGIO E DIFFUSIONE DEL MICROBO; tale picco trova la sua ragione:
 - nella vita in ambienti chiusi.
 - nella probabile condizione di immunodeficienza che in un ambiente di questo genere e stress di questo tipo viene a crearsi.

IDENTIFICAZIONE E CLASSIFICAZIONE DELLE NEISSERIE MENINGITIDIS:

È stata eseguita sulla base di antigeni polisaccaridici una divisione in gruppi di questo tipo di batteri, fondamentalmente possiamo ricordare:

- neisseria meningitidis di tipo A.
- neisseria meningitidis di tipo B circa 25-30% dei casi.
- neisseria meningitidis di tipo C circa 75-60% dei casi.
- neisseria meningitidis di tipo Y.
- neisseria meningitidis di tipo W-135.

in linea generale i CASI DI MENINGITE DA NEISSERIA MENINGITIDIS sono circa 250-300 L'ANNO IN ITALIA.

il terrore di una epidemia da neisseria nel 2007 nel trevigiano: è importante sottolineare il fatto che non ci furono epidemie vere e proprie e anzi, nel 2007 si registrarono meno casi del solito. Il panico è legato al fatto che in una medesima località, il trevigiano, due casi di neisseria meningitidis W-135 scoppiarono contemporaneamente.

nel mondo possiamo riconoscere UNA GROSSA REGIONE EPIDEMICA nell'Africa subsahariana legata alla forte presenza di neisseria meningitidis di tipo A. In questi paesi la vaccinazione sarebbe necessaria, tuttavia:

- i costi sono elevati.
- il vaccino la neisseria meningitidis di tipo A è poco sviluppato:
 - non funziona benissimo in generale.
 - è ancor meno efficace nel bambino.

La sua inefficacia nel bambino rende tale farmaco scarsamente utilizzabile dal punto di vista della vaccinazione.

LA PROFILASSI TERAPEUTICA per questo tipo di patologia si esegue con RIFAMPICINA (farmaco che inibisce la sintesi dell'RNA) due volte al giorno per due giorni.

LA DIAGNOSI:

LA DIAGNOSI per quanto riguarda QUESTE INFEZIONI SI FA GENERALMENTE A PARTIRE DA UN CAMPIONE DI LIQUOR prelevato a livello spinale. Per microorganismi di questa pericolosità LA DIAGNOSI deve essere fatta il più rapidamente possibile; anche se le possibilità diagnostiche sono molto varie, è possibile dividere campione di liquor in due parti:

- una prima viene trattata come se si trattasse di sangue eseguendo una EMOCOLTURA BACTEC: in questo modo si individua rapidamente e in modo certo la presenza di un microorganismo nel campione.
- una seconda parte viene sottoposta a CENTRIFUGAZIONE:
 - IL SEDIMENTO:
 - viene osservato al microscopio. Tale test si esegue in circa mezz'ora e risultano particolarmente significative:
 - si tratta di un liquor purulento.
 - ricco di cocci gram negativi disposti a coppie.
 - si esegue un esame colturale: è necessario utilizzare un terreno particolare detto AGAR CIOCCOLATO caratterizzato da una colorazione marrone in quanto costituito di sangue cotto con acqua e anidride carbonica. Le colonie isolate, a questo punto, sono:
 - mucose.
 - traslucide.
 - non pigmentate.
 - IL SOPRANATANTE dovrebbe contenere antigeni capsulari specifici della capsula emesse dal batterio in questione, non sapendo ancora con precisione quale sia l'agente eziologico della patologia, si inseriscono diversi anticorpi nel campione:
 - contro lo pneumococco.
 - contro l'emophilus influenzae.
 - contro il meningococco.

il batterio si presenta in ogni caso facilmente identificabile tramite prove biochimiche:

- risulta ossidasi positivo.
- ha capacità fermentanti rispetto a zuccheri diversi.

CLAMYDIE

Le clamidie sono dei batteri particolari, si tratta infatti di:

- cellule tondeggianti.
- difficilmente colorabili con la colorazione di GRAM ma visualizzabili al microscopio tramite:
 - metodo di macchiavello.
 - Colorazione giemsa.
- SONO PARASSITI INTRACELLULARI OBBLIGATI: sono deficitari del sistema di produzione dell'ATP e utilizzano quindi il macchinario mitocondriale cellulare per produrlo e proliferare. Nonostante per anni si sia stati in dubbio relativamente alla loro natura, oggi sappiamo che non sono virus.
- hanno un METODO DI REPLICAZIONE PARTICOLARISSIMO.

RICORDIAMO TRE TIPI DI CLAMIDIE FONDAMENTALMENTE:

1. clamidia PSITTACI.
2. clamidia TRACHOMATIS.
3. clamidia PNEUMONIAE un tempo accompagnata ad altri batteri sotto la sigla TWAR.

QUESTI BATTERI ESISTONO IN DUE FORME DISTINTE il che li rende piuttosto particolari:

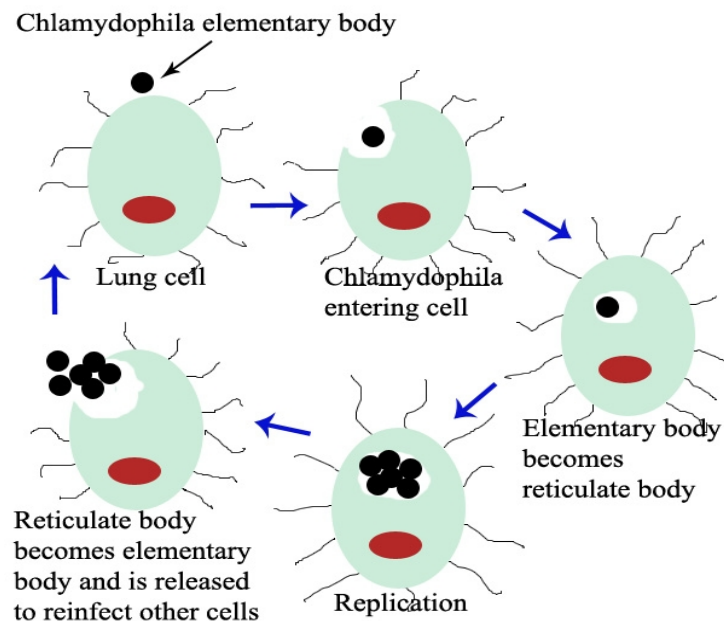
- CORPO ELEMENTARE che si presenta:
 - piccolo.
 - denso.
 - A parete robusta per cui sopravvive anche fuori dalla cellula, seppur per un breve tempo.

È LA FORMA INFETTANTE.

- CORPO RETICOLARE che si presenta invece:
 - grande.
 - lasso.
 - A parete non robusta.

è la forma INTRACELLULARE.

Fondamentalmente il CORPO ELEMENTARE PENETRA NELLA CELLULA dove diviene CORPO RETICOLARE E SI MOLTIPLICA: nel momento in cui la cellula non riesce a supportare le necessità energetiche di tali organismi, I CORPI RETICOLARI TORNANO ED ESSERE CORPI ELEMENTARI E LA CELLULA MUORE. I corpi elementari a questo punto fuoriescono e vanno ad infettare altre cellule.



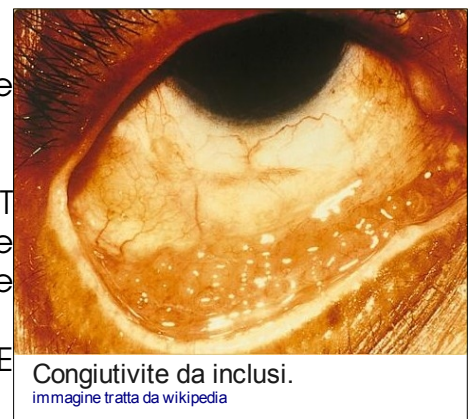
LA CLAMIDIA PNEUMONIAE:

si tratta dell'agente patogeno della polmonite ATIPICA, fondamentalmente a livello sintomatologico non presenta differenze rispetto ad un polmonite normale, l'unica differenza si riscontra, ovviamente, a livello TERAPEUTICO: i macrolidi sono molto utilizzati.

LA CLAMIDIA TRACOMATIS:

si tratta di un microorganismo associata a patologie quali:

- PATOLOGIE ASSOCIATE ALL'OCCHIO:
 - TRACOMA.
 - CONGIUNTIVITI DA INCLUSI sia neonatali che adulte.
- PATOLOGIE ASSOCIATE AL TRATTO GENITALE:
 - URETRITE NON GONOCOCCICA O POST GONOCOCCICA che sostanzialmente presenta le medesime manifestazioni delle patologie da ureaplasma urealiticum.
 - INFEZIONI DELL'APPARATO GENITALE FEMMINILE.
 - LINFOGRANULOMA VENEREO: gli agenti patogeni responsabili di questa patologia sono ceppi particolari che nelle nostre regioni sono difficilmente visibili, si tratta di una malattia:
 - tipica dei paesi caldi.
 - trasmessa sessualmente.
 - il microorganismo:
 - si insedia ai linfonodi locali.
 - Genera un ingrossamento dei linfonodi.
 - si forma una FISTOLA.
 - POLMONITI INTERSTIZIALI NEL NEONATO.



LA CLAMIDIA PSITACI:

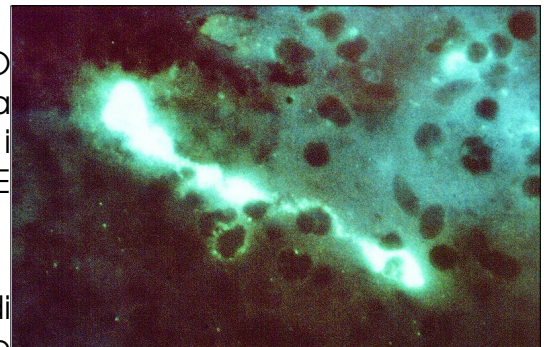
provoca una malattia della PSITACOSI O ORNITOSI, si tratta di una zoonosi: la malattia originale colpisce piccoli volatili come i pappagalli e genera di fatto una GRAVE POLMONITE INTERSTIZIALE aggressiva.

LA DIAGNOSI:

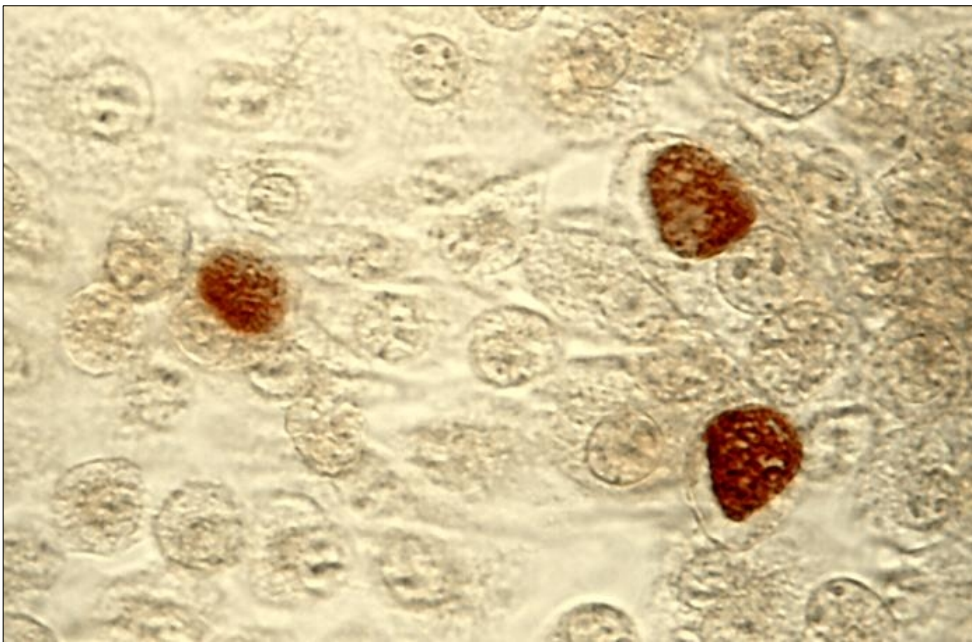
come accennato in precedenza si tratta di parassiti intracellulari obbligati, devono essere quindi coltivati in appositi campioni cellulari eucariotici; generalmente SI INOCULA IL

MATERIALE IN COLTURE CELLULARI IN VITRO. Le clamydie si accumulano nel citoplasma della cellula in coltura formando degli inclusi che possono essere colorati:

- con JODIO: essendo particolarmente ricchi in glicogeno a seguito di questa colorazione assumono un colore giallo marrone.
- nel caso in cui vi sia una INFEZIONE GENITALE si utilizzano IMMUNOFLUORESCENZE DIRETTE SPECIFICHE CONTRO I CORPI ELEMENTARI che risultano visibili nel campione come delle sferette fluorescenti.



Immunofluorescenza di clamydia psittaci.
immagine tratta da wikipedia



Inserti da clamydia trachomatis.

immagine tratta da wikipedia

MYCOPLASMA E UREAPLASMA

si tratta di microorganismi strutturalmente particolari:

- piccoli microorganismi privi di parete cellulare; nonostante questo non sono sensibili agli antimicotici.
- Presentano una membrana citoplasmatica contenente molti steroli: la coltivazione di questo tipo di batterio necessita quindi di terreni addizionati con siero di cavallo che presenta elevate concentrazioni di colesterolo.
- presentano ribosomi 70s
- sono aerobi anaerobi facoltativi.
- crescono meglio in condizioni di anaerobiosi.

Ricordiamo in particolare tre microorganismi:

1. mycoplasma pneumoniae: l'unico veramente pericoloso.
2. ureaplasma urealyticum.
3. mycoplasma hominis.

Nonostante non presentino una parete cellulare, sulla base delle condizioni ambientali e della eventuale forma ideale che dovrebbero assumere per contagiare il loro ospite, tali batteri assumono forme relativamente stabili.

MYCOPLASMA PNEUMONIAE:

si tratta dell'agente eziologico della POLMONITE ATIPICA PRIMARIA, si tratta di una POLMONITE INTERSTIZIALE A TOSSE SECCA; tale patologia presenta:

- contagio interumano.
- una incubazione di 2-3 settimane.
- INIZIO LENTO caratterizzato da sintomi quali:
 - febbre.
 - cefalea.
 - malessere.
- SINTOMI RESPIRATORI in particolare una tosse secca non produttiva ESTREMAMENTE VIOLENTA tanto da poter causare la frattura di costole.
- RISOLUZIONE IN 2-4 SETTIMANE.

LA MALATTIA LASCIA UNA PROLUNGATA ASTENIA.

LA DIAGNOSI:

la diagnosi viene effettuata generalmente tramite la ricerca di ANTICORPI PER AGGLUTINAZIONE PASSIVA:

- si utilizzano globuli rossi che presentano sulla loro superficie l'antigene del mycoplasma: si trovano in commercio senza alcun problema.
- Se espongono al siero del paziente.
- Se avviene una reazione di agglutinazione allora IL PAZIENTE SARÀ POSITIVO.

In ogni caso tali microorganismi si possono coltivare con siero di cavallo E DANNO DELLE CARATTERISTICHE COLONIE AD UOVO FRITTO: piccole colonie visibili al microscopio che presentano una forma ad uovo fritto.

LA RICERCA DI AGGLUTININE A FREDDO:

A seguito della infezione da mycoplasmi si possono sviluppare delle particolari IMMUNOGLOBULINE dette AGGLUTININE A FREDDO: si tratta di immunoglobuline

che reagiscono con i globuli rossi agglutinandoli unicamente a temperature più basse della norma. La ricerca di questi particolari anticorpi si esegue senza nessun problema e con costi molto bassi, la presenza di tali anticorpi è spesso indice di INFEZIONE DA MYCOPLASMA.

LA TERAPIA:

Tale patologia non risulta curabile con farmaci che agiscono a livello di parete ovviamente, si utilizzano molto spesso MACROLIDI mentre le tetracicline oggi si usano relativamente poco.

UREAPLASMA UREALITICUM:

provoca infezioni GENITOURINARIE in particolare URETRITI che si dividono in POST GONOCOCCICHE O NON GONOCOCCICHE a seconda che si presentino successivamente o in assenza di uretriti da gonococco.

- URETRITE NON GONOCOCCICA: provoca SECREZIONI BIANCASTRE ANCHE DI PICCOLA ENTITÀ.
- URETRITE POST GONOCOCCICA: generalmente la sintomatologia della gonorrea è generalmente prevalente e viene curata con beta lattamici, E QUINDI L'UREAPLASMA PERMANE NELLA URETRA E GENERA UNA INFEZIONE CHE PORTA A:
 - RAPPORTO DOLOROSO.
 - DISURIA.

Tale batterio fa parte della normale flora batterica genitale e si riscontra nel 70% degli individui sessualmente attivi. Oltre ad infezioni uretrali tale microorganismo risulta associato a:

- infertilità.
- Diverse patologie fetali:
 - corionamniosite: infezione delle membrane fetali.
 - Parto del bambino nato morto.
 - Parto pretermine.
- Partologie perinatali quali:
 - polmonite.
 - Displasia broncopolmonare.
 - Meningite.

PARTO PRETERMINE E INFEZIONI:

Le infezioni intrauterine (ed eventualmente sistemiche) sono l'unico fattore statisticamente associato al parto pretermine: si stima che circa il 25-40% dei parti pretermine siano associati a infezioni di questo tipo. I batteri capaci di provocare questo tipo di patologia sono:

1. UREAPLASMA UREALITICUM.
2. MYCOPLASMA HOMINIS.
3. STREPTOCOCCUS AGALATIE.
4. TAFILOCOCCUS AUREUS.
5. GARDNERELLA VAGINALIS.
6. CLAMYDIA TRACHOMATIS.

I meccanismi tramite cui questi microorganismi, ma anche molti altri, possono indurre un parto pretermine sono associati ALLA PRODUZIONE DI FATTORI DI FLOGOSI tra cui soprattutto citochine STIMOLATA DALLA ATTIVITÀ FLOGISTICA DEL BATTERIO STESSO.

Generalmente il contatto con la decidua ed eventualmente con altre parti della placenta si verifica per risalita del tratto cervicovaginale da parte di questi batteri: si tratta sicuramente della via più utilizzata, tuttavia è possibile che tali microorganismi raggiungano gli annessi placentari tramite via ematica o transtubarica, possono inoltre verificarsi delle infezioni accidentali durante operazioni quali amniocentesi, follicolocentesi o villocentesi.

TERAPIA:

la terapia normale si basa, come per il mycoplasma, su MACROLIDI.

LE SPIROCHETE:

Le spirochete sono dei microorganismi SPIRALIFORMI:

- mobili per la presenza di fasci di fibre muscolari nello spazio periplasmico tramite la contrazione delle quali il microorganismo accorcia ed allunga il passo dell'elica che lo compone.
- presentano una parete SIMILE A QUELLA DEI BATTERI GRAM NEGATIVI anche se la colorazione di gram non è utile per questi batteri: SONO TANTO PICCOLI CHE NON SONO VISIBILI AL MICROSCOPIO.

IN QUESTA CATEGORIA POSSIAMO RICONOSCERE DUE GENERI DI BATTERI E UNA FAMIGLIA:

- il genere TREPONEMA.
- Il genere BORRELIA.
- LEPTOSPIRE che appartengono in realtà alla famiglia delle leptospiracee.

Ricordiamo inoltre:

- il genere spirocheta.
- Il genere Cristispira.
- Il genere serpulina.

Nel complesso sono in realtà numerosissimi.

I TREMPONEMI:

si tratta di microorganismi dal diametro piccolissimo, da 0,1 a 0,2µm; l'osservazione è possibile unicamente tramite:

- microscopi appositi.
- impregnazione argantica.

non si possono coltivare in vitro, l'unico modo per avere a disposizione tali microorganismi è INOCULARE IL BATTERIO NEL TESTICOLO DEL CONIGLIO dove si moltiplica. Sono anaerobi obbligati.

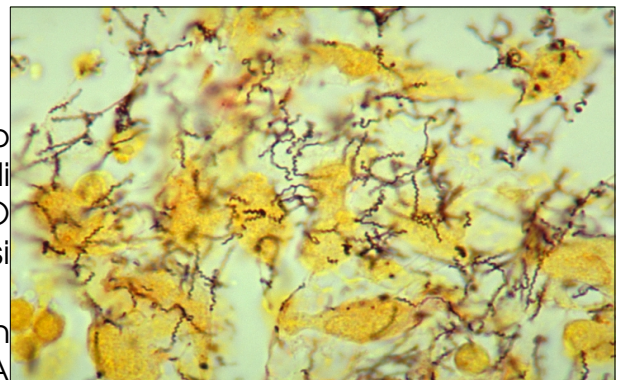
esistono diverse specie patogene, in particolare ricordiamo IL TREPONEMA PALLIDUM SOTTOSPECIE PALLIDUM responsabile della SIFILIDE, malattia:

- diffusa in tutto il mondo.
- sistemica.
- storicamente importante in quanto ha colpito numerosissimi personaggi come papi, scienziati, pittori e imperatori; ricordiamo in particolare Nietzsche e Oscar Wilde.

Oltre al treponema pallidum possiamo riconoscere:

- pallidum endemicum che causa la sifilide endemica.
- pallidum carateum agente eziologico della pinta, una malattia cutanea.
- pallidum pertenue che provoca un'infezione di cute, ossa e articolazioni tipica dei paesi caldi.

LA SIFILIDE:



Treponema reso visibile tramite impregnazione argantica.

immagine tratta da wikipedia

si tratta di una malattia che si ACQUISISCE SOLO ED ESCLUSIVAMENTE PER VIA SESSUALE, sono possibili anche trasmissioni verticali madre feto.

- il microorganismo penetra attivamente nelle mucose cui entra in contatto.
- dopo 10-15 giorni a livello del punto di penetrazione emerge un SIFILOMA PRIMARIO.
- il SIFILOMA GUARISCE SPONTANEAMENTE e la malattia permane silente PER 2-4 MESI.
- Si sviluppa una SIFILIDE SECONDARIA.
- Anche dopo anni dalla infezione generalmente la patologia riemerge come SIFILIDE TERZIARIA.

IL SIFILOMA PRIMARIO:

si riscontra a livello della mucosa di accesso del microorganismo, generalmente a livello genitale. Fondamentalmente si tratta di una lesione di questo tipo:

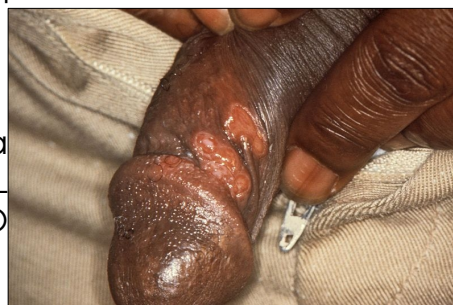
- PAPULA sulla mucosa CHE EVOLVE A ULCERA e presenta:
 - fondo duro, granuloso.
 - indolente.
- UNA LINFOADENITE REGIONALE.

la lesione guarisce spontaneamente, ma anche a seguito di questa apparente guarigione IL MICROORGANISMO SI PROPAGA NELL'ORGANISMO DELL'OSPITE.

SIFILIDE SECONDARIA:

il batterio si moltiplica per 2-4 mesi durante i quali la malattia diviene SISTEMICA e si manifesta come:

- lesione maculo papulare diffusa comprensiva di PIANTE e PALME DEL PIEDE, generalmente tali sedi non presentano lesioni e questo rende la patologia facilmente riconoscibile.
- diffusione ematica A MOLTISSIMI ORGANI quali:
 - fegato.
 - sistema nervoso
 - occhio.
 - Rene.
 - Meningi dove può portare ad una meningite nel 2% dei pazienti.
- il paziente presenta a questo punto:
 - malessere.
 - anoressia.
 - faringotonsillite.
 - linfadenopatia GENERALIZZATA.
 - cefalea.
 - TOSSE PRODUTTIVA.



Lesione da sifilema primario, a fondo duro e granuloso e assolutamente indolente
immagine tratta da wikipedia



Tipica lesione cutanea della sifilide secondaria a livello del palmo delle mani.

immagine tratta da wikipedia

LE LESIONI SECONDARIE generate in questa fase SONO RICCHISSIME DI TREPONEMI E SONO ESTREMAMENTE CONTAGIOSE A SEGUITO DI APERTURA: i treponemi si propagano quindi nell'ambiente e, anche se si tratta di microorganismi relativamente fragili, possono essere pericolosi. Il treponema non è, in ogni caso, in grado di penetrare attraverso la cute integra.

SIFILIDE TERZIARIA:

mentre il sifilema primario e la sifilide secondaria sono legate alla presenza attiva del batterio e si sviluppano in tempi relativamente brevi, la sifilide terziaria si sviluppa dopo anni dalla infezione ED È LEGATA ALL'EFFETTO DELLA ATTIVITÀ DEI GRANULOMI CHE QUESTA PATOLOGIA GENERA che sono DETTI GOMMA. Statisticamente possiamo dire che:

- il 30% DELLE INFEZIONI GUARISCE NORMALMENTE.
- il 30% PERMANE LATENTE.
- Il 30% AVANZA A SIFILIDE TERZIARIA.

L'INTERESSAMENTO SISTEMICO è legato al fatto che la GOMME, una lesione GRANULOMATOSA morbida e non cancerosa che si manifesta a livello di:

- cute.
- ossa.
- fegato.

Notevole anche l'INTERESSAMENTO DELLE STRUTTURE VASCOLARI: i gomme possono anche svilupparsi a livello dei vasa vasorum, soprattutto nella aorta dove generano:

- aneurismi notevoli.
- Insufficienze valvolari.

Portando alla morte del paziente.

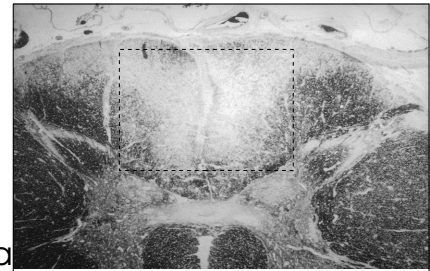
Si registra inoltre un notevole INTERESSAMENTO DEL SISTEMA NERVOSO CENTRALE tanto da spingere il paziente al ricovero in manicomio; tale interessamento è legato ad una sequenza di eventi:

- NECROSI COLLICOATTIVA CENTRALE delle GOMMA.
- tale necrosi viene RIPARATA TRAMITE CICATRIZZAZIONE ATTIVA mediata, ovviamente, da FIBROBLASTI.
- Spesso si formano delle CICATRICI DEFORMANTI che possono ledere:
 - una radice nervosa generando una TABE DORSALE: alla uscita della radice, la gomma cicatrizzata costringe la radice stessa provocando un dolore consistente.
 - emiplegia.

- convulsioni.
- afasia.
- cambiamenti di personalità.
- demenza.
- incontinenze fecali e urinarie.
- disturbi della acomodazione.

I problemi generati possono essere i più diversi, tuttavia da uno studio recente relativo a casi di sifilide non trattati si è visto che:

- 10% dei pazienti sviluppa problemi cardiovascolari.
- 16% semplicemente lo sviluppo di gomme.
- 7% risulta affetto al termine dello studio da neurosifilide.



Lesione da TABE DORSALIS: l'area bianca evidenziata mostra la lesione che appare come una macchia biancastra alla osservazione.

immagine tratta da wikipedia

TRASMISSIONE MADRE-FETO:

nel caso in cui una donna affetta da sifilide vada incontro ad una gravidanza, sono possibili fondamentalmente due eventualità:

- un aborto legato al fatto che il bambino presenta lesioni consistenti.
- Una sifilide congenita legata al fatto che il bambino si presenta NUETICO.

IL BAMBINO NUETICO PRESENTA DELLE MALFORMAZIONI OSSEE CONSIDEREBILI legate soprattutto a:

- bozze frontali ipersviluppate.
- mascella corta.
- arco palatino pronunciato.
- Denti di Hutchinson.
- moltissime altre deformazioni.

infezioni di questo tipo possono, inoltre, generare sordità centrali.



Denti di hutchinson, tipico segno di una sifilide congenita: gli incisivi del neonato risultano molto separati tra loro e presentano delle evidenti tacche sulla superficie di incisione.

immagine tratta da wikipedia

LA DIAGNOSI:

questo microorganismo è difficilmente coltivabile come accennato in precedenza, si POSSONO ESEGUIRE ESAMI MICROSCOPICI unicamente nel caso in cui vi sia lesione aperta. In tutti gli altri casi si eseguono DIAGNOSI INDIRETTE SIEROLOGICHE; a questo proposito possiamo distinguere:

- REAZIONI TREPONEMICHE per cui si utilizzano treponemi o antigeni di derivazione treponemica; ricordiamo:
 - TPHA: si utilizzano globuli rossi associati ad antigeni treponemici.
 - FTA ABS cioè una reazione di immunofluorescenza.
 - TPI o TEST DI NELSON si tratta di un test che prevede l'utilizzo di treponemi vivi:
 - si preleva il treponema da un campione vivo come il testicolo di coniglio.
 - il treponema posto sotto osservazione si muove.
 - si inserisce il siero del paziente nel campione.

- se sono presenti anticorpi e complemento nel siero questi si legano al treponema.
- il treponema si FERMA.

Queste prove NON NEGATIVIZZANO MAI a seguito della guarigione per la memoria immunitaria molto forte che la patologia genera.

- REAZIONI NON TREPONEMICHE per cui si utilizzano sostanze che non hanno nulla a che fare con il treponema stesso, ma che presentano cross reattività con gli anticorpi anti treponema come la CARDIOLIPINA. Ricordiamo:
 - VDRL:
 - si prepara un vetrino con il siero del paziente.
 - Si inserisce la cardiolipina.
 - Se sono presenti anticorpi si assiste alla formazione di PICCOLISSIMI FIOCCHI E SI PARLA DI REAZIONE DI FLOCCULAZIONE.
 - RPR.
 - REAZIONE DI WASSERMANN che sfrutta la fissazione del complemento.

Al contrario delle precedenti, con la guarigione tali prove divengono NEGATIVE, di conseguenza PRESENTANO UN UTILIZZO DIAGNOSTICO DIFFERENTE.

Generalmente per avere un quadro completo della situazione si utilizzano entrambe le tecniche: nel caso in cui un paziente presenti TEST BASATI SU CARDIOLIPINA POSITIVI e TEST TREPONEMICI NEGATIVI chiaramente non è malato di sifilide, MA LA POSITIVITÀ ALLA CARDIOLIPINA POTREBBE ESSERE LEGATA A patologie quali:

- patologie legate al collagene.
- tumori.
- perfino tubercolosi.

È quindi sempre necessario approfondire la questione.

LE BORRELIE:

si tratta di microorganismi visibili al microscopio in quanto il loro diametro è di 0,2-0,5µm, sono inoltre coltivabili anche se con difficoltà. Il passo della struttura elicoidale è abbastanza largo per questi microorganismi. Presentano un metabolismo microaerofilo.

Le borrelie capaci di generare dei quadri patologici nell'uomo sono:

- BORRELIA BURGDORFERI agente eziologico della malattia di Lyme.
- BORRELIA RICURRENTI agente eziologico della febbre ricorrente.

le BORRELIE NECESSITANO DI UN VETTORE PER POTER INFETTARE UN PAZIENTE come per esempio una zecca.

LA BORRELIA RICORRENTIS:

la borrelia ricorrentis è l'agente eziologico della FEBBRE RICORRENTE che, come abbiamo visto, si presenta come una febbre altalenante ricorrente che riemerge continuamente a causa delle rapide VARIAZIONI ANTIGENICHE CHE È CAPACE DI GENERARE. La borrelia ricorrentis è l'unica BORRELIA TRASMESSA NON DA UNA ZECCA MA DA PIDOCCHI.

LA BORRELIA BURGDORFERI:

LA MALATTIA DI LIME è una MALATTIA che si presenta a livello di manifestazione

estremamente variegata, in particolare alcuni sintomi sono:

- DOLORI ARTICOLARI, LINFOADENOPATIA, FEBBRE, accompagnate da moltissimi altri problemi.
- IL FATTORE PIÙ SIGNIFICATIVO È L'ERITEMA CRONICO MIGRANTE, si tratta di un eritema caratteristico che si presenta però solo nel 90% dei casi; si tratta di un eritema caratterizzato da ROSSORE CON CERCINE CENTRALE CHE SI ALLARGA NEL TEMPO.

DIAGNOSI:

fondamentalmente si eseguono:

- diagnosi IMMUNOLOGICHE PER LA MALATTIA DI LIME.
- diagnosi NON IMMUNOLOGICHE PER LA FEBBRE RICORRENTE in quanto muta continuamente a livello antigenico.

le PROVE COLTURALI sono di SCARSO SIGNIFICATO.

L'esame MICROSCOPICO DIVIENE FONDAMENTALE NELLA FEBBRE RICORRENTE: si esegue uno striscio di sangue DOVE RISULTA PALESE LA PRESENZA DELLA BORRELIA.

LE LEPTOSPIRE:

presentano un diametro di $0,1\mu$, molto piccole quindi, e difficilmente coltivabili in vitro. Passo dell'elica molto stretta. Si tratta in ogni caso:

- di un microorganismo ambientale, vive soprattutto nell'acqua: la leptospira convive senza dare forme patologiche nei tubuli renali del rattus norvegicus (pantegana).
- Presenta un metabolismo aerobio.
- provoca quadri molto diversi tra loro: da forme poco apparenti come sindromi febbrili a forme molto gravi come il MORBO DI WEIL.

IL MORBO DI WEIL:

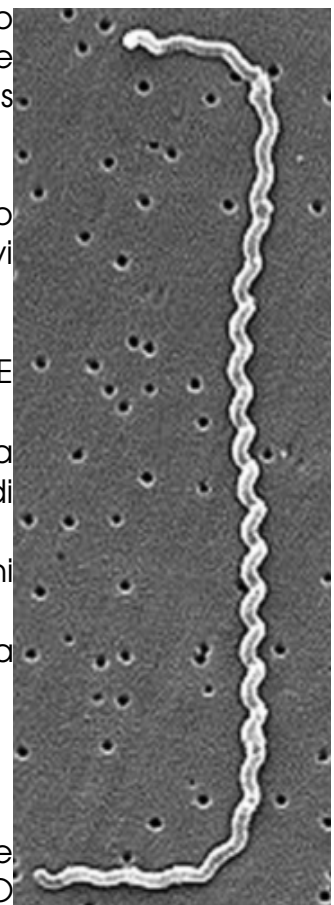
si tratta di una patologia associata a insufficienze EPATICHE E RENALI; si sviluppa in due fasi distinte:

- PRIMA FASE: si tratta di una fase transitoria che presenta una sintomatologia tipicamente influenzale: mal di testa, febbre, mialgia.
- SECONDA FASE che si estrinseca dopo alcuni giorni dalla sparizione dei primi sintomi e si manifesta con:
 - MANIFESTAZIONI EMORRAGICHE legate alla mancata produzione di fattori della coagulazione.
 - meningite.
 - estesa vasculite.
 - miocardite.

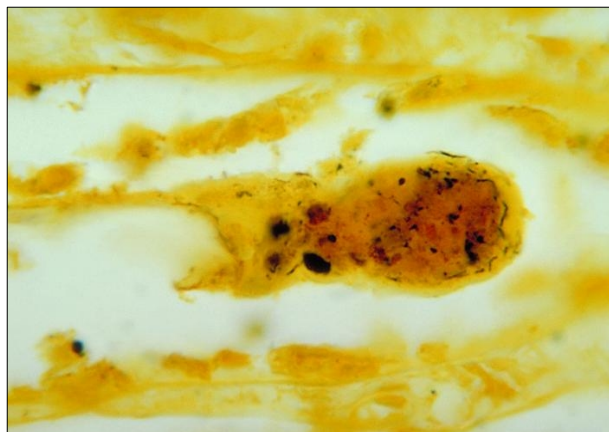
si tratta di una infezione molto grave e può portare a morte del paziente, risulta difficilmente GESTIBILE IN QUANTO



Eritema cronico migrante tipico della malattia di Lyme.
immagine tratta da wikipedia



PRESENTA UN ANDAMENTO ESTREMAMENTE RAPIDO: CON L'INIZIO DELLA INSUFFICIENZA RENALE, che segue quella epatica, il PAZIENTE RISCHIA LA VITA.



FISSAZIONE ARGENTICA DI TESSUTO RENALE: emerge molto chiaramente la presenza di leptospire nel tessuto stesso.

immagine tratta da wikipedia

DIAGNOSTICA:

si tratta di un microorganismo difficilmente individuabile in laboratorio, nessun test è veramente efficace in quanto:

- i risultati dei test sono TARDIVI.
- i risultati sono INDICATIVI ma non troppo precisi.

SOGGETTI A RISCHIO¹ SONO chiaramente:

- disinfestatori.
- pescatori.

che sono spesso VACCINATI CONTRO QUESTI MICROORGANISMI, il vaccino esiste ed è efficace.

¹ un tipico soggetto a rischio era la MONDINA, sempre immersa fino alle ginocchia dall'acqua.

GARDNERELLA VAGINALIS:

Si tratta di un microorganismo capace di provocare delle infezioni vaginali dette VAGINOSI, meno gravi delle normali vaginiti, si tratta di:

- bastoncini gram positivi o gram variabili.
- immobili.
- asporigeni.

si tratta di patologie che si manifestano sostanzialmente nel periodo POST MENOPAUSA soprattutto a causa delle modificazioni delle componenti in glicogeno della strutture cellulari vaginali. Si manifestano tramite PERDITE GRIGIE MALEODORANTI.

Questo tipo di batterio riesce presenta un metabolismo aerobio facoltativo e PROLIFERA NEL MOMENTO IN CUI, come avviene nella menopausa, lattobacilli della flora vaginale diminuiscano in numero lasciando spazio a batteri ANAEROBI e alla GARDNERELLA VAGINALIS.

Questo batterio produce una TOSSINA detta VAGINOLISINA che colpisce colpisce unicamente le cellule eucariotiche umane. Ad un esame microscopico è possibile osservare una grande quantità di batteri associati sulla superficie della cellula epiteliale.

LA DIAGNOSI:

LA DIAGNOSI di questo tipo di patologia, vista la peculiare manifestazione, non è particolarmente difficile, tuttavia in laboratorio è possibile:

- NOTARE ALLA OSSERVAZIONE CELLULE EPITELIALI:
 - DI DIMENSIONI NOTEVOLI.
 - RICOPERTE DI PICCOLI BASTONCINI GRAM NEGATIVI.
- COLTIVARE il microorganismo in questione IN AGAR SANGUE.

TERAPIA:

la gardnerella vaginalis risulta SENSIBILE AL METRONIDAZOLO, un antiinfettivo, che viene somministrato unicamente localmente.

È importante sottolineare il fatto che LA GARDNERELLA si presenta spesso associata a BATTERI DEL GENERE MOBILUNCUS: ad oggi non si sa quale sia la causa prima della patologia descritta e si pensa vi possano essere delle cooperazioni tra i due batteri. In ogni caso non è stato possibile stabilire con precisione la EZIOLOGIA in quanto IL METRONIDAZOLO ELIMINA ENTRAMBE LE SPECIE BATTERICHE.

LE LEGIONELLE:

si tratta di:

- bastoncini gram negativi lievemente pleiomorfi.
- mobili ma non sempre.
- non sporigeni.
- si coltivano facilmente.

questi batteri provocano fondamentalmente due patologie:

- LA FEBBRE DEI LEGIONARI.
- LA FEBBRE DI PONTIAC.

per motivi associati AL PECULIARE AMBIENTE DI SOPRAVVIVENZA di questi batteri tale patologia nasce in America e si propaga per L'USO DI ARIA CONDIZIONATA E VITA IN AMBIENTI AFFOLLATE E CHIUSI: mentre la trasmissione interumana è piuttosto difficile, il microbo cresce senza problemi nel liquido di accumulo dei condizionatori. La malattia dei legionari nasce ad una CONVENTION DI REDUCI DEL VIETNAM, alcuni di questi soggetti andarono improvvisamente incontro a quadri patologici anche piuttosto gravi.



MALATTIA DEI LEGIONARI:

tale patologia si caratterizza per:

- mialgia e cefalee con FEBBRE.
- TOSSE SECCA che può anche evolvere a PRODUTTIVA.
- a volte si possono avere sintomi quali:
 - pleurite.
 - vomito.
 - diarrea.
 - turbe del sensorio.
- un aspetto rilevante di questa patologia è il fatto che ALL'INDAGINE TRAMITE RADIOGRAFIA SI POSSONO INDIVIDUARE:
 - INFILTRATI INTERSTIZIALI CON TENDENZA ALLA PROGRESSIONE E ALLA CONFLUENZA.
 - PRODUZIONE DI NUDULI.

LA MORTALITÀ È DEL 15%, l'infezione è molto seria e spesso porta al ricovero in rianimazione.

NORMALMENTE UN CONDIZIONATORE D'ARIA RACCOGLIE ARIA DALL'ESTERNO e LA RIPULISCE GRAZIE A percentuali di UMIDITÀ MOLTO ELEVATE che intrappolano per condensazione le componenti corpuscolate: questo tipo di batterio cresce benissimo a livello dell'acqua di scolo di questi condizionatori. Il terreno di coltura di laboratorio sfrutta POLVERE DI CARBONE E LIEVITI nei quali il batterio cresce benissimo che viene detto buffered charcoal yeast extract (BCYE) agar.

FATTORI DI VIRULENZA:

i macrofagi alveolari non riescono a eliminare la legionella: il macrofago si avvolge intorno al batterio, ma non riesce a fagocitarlo, come conseguenza a questa

situazione di stasi, il macrofago viene ucciso dalla legionella.

DIAGNOSI:

abbastanza complessa, si tratta di una **INTESTIZIOPATIA VERA** di conseguenza un soggetto difficilmente contagia un'altra persona e **L'ESPETTORATO NON È UTILE**, si lavora eventualmente su:

- BRONCOASPIRATO.
- BIOPSIA POLMONARE.

utilizzando il terreno sopra citato, sarebbe relativamente facile coltivare tale microbo, ma il microbo stesso risulta difficilmente reperibile.

Si fanno spesso **DIAGNOSI SIEROLOGICHE** tramite **RICERCA DI ANTICORPI**.

LA FEBBRE DI PONTIAC:

si tratta di una legionellosi, ma decisamente meno intensa rispetto a tutta la sintomatologia presa in considerazione:

- si risolve in tempo breve.
- la mortalità è molto ridotta se paragonata ad una legionellosi.

LE LISTERIE:

si tratta di infezioni estremamente sporadiche che sono tuttavia abbastanza gravi; le listerie sono:

- bastoncini gram positivi.
- pleiomorfi.
- sono stati associati ai corinebatteri per lunghissimo tempo per la loro capacità di formare delle conformazioni particolarmente riconoscibili e regolari al microscopio ottico.
- mobili.
- asporigeni.
- acapsulati.
- sono aerobi anaerobi facoltativi.

Gli unici microorganismi pericolosi per l'essere umano sono le listerie monocitogenes; questi microorganismi INFETTANO ANIMALI DOMESTICI e non solo, la INFEZIONE UMANA AVVIENE PER:

- consumo di prodotti animali infetti.
- vita a stretto contatto con l'animale infetto.

Si tratta di microorganismi estremamente resistenti, possono proliferare a temperature variabili da 4° a 37°C; presenta inoltre la capacità di regolare attivamente la espressione di fattori di virulenza sulla base della temperatura circostante: a 37°C i geni contenenti i fattori di virulenza si attivano rendendo il batterio pericoloso.

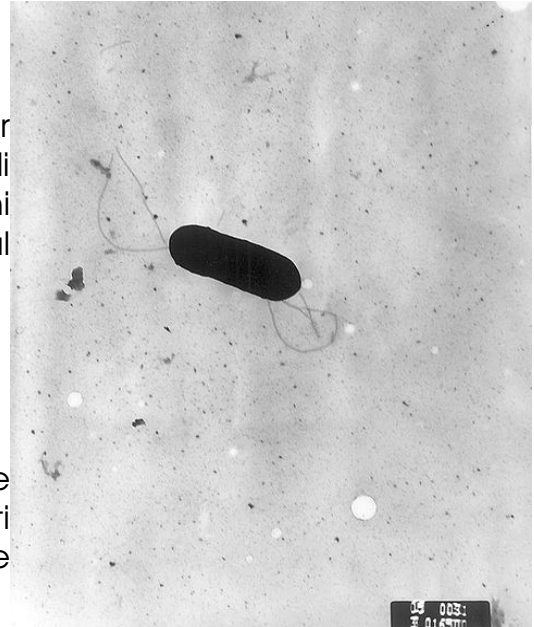
Il microorganismo in questione presenta la capacità di penetrare nelle cellule macrofagiche dell'organismo umano e di vivere dentro di esse senza andare incontro a lisi: sempre a causa dell'incremento della temperatura, una volta penetrato nella cellula, il batterio SMETTE DI ESPRIMERE ATTIVAMENTE FLAGELLI e sfrutta la cellula macrofagica per muoversi. Nel momento in cui sia necessario uscire dalla cellule ospite, il batterio esprime una ulteriore capacità: tramite appositi enzimi diviene capace di manipolare le formazioni citoscheletriche della cellula ospite e tramite esse si fa espellere dal citoplasma.

per quanto riguarda le manifestazioni cliniche possiamo distinguere in modo chiaro una LISTERIOSI FETALE e una LISTERIOSI ADULTA.

LISTERIOSI FETALE:

sono casi in cui la MADRE PRESENTA UNA INFEZIONE DURANTE LA GRAVIDANZA, il batterio ha un notevole tropismo per gli annessi placentari, a seguito di una infezione si possono generare due quadri patologici di questo tipo:

- RAGGIUNGE IL FETO E PORTA AD ABORTO.
- PUÒ PORTARE A GRAVI CONSEGUENZE NEONATALI:
 - MENINGITE PURULENTA CONNATALE.
 - GRANULOMATOSI ANTISETTICA: si tratta fondamentalmente di una sepsi



che porta alla formazione di granulomi generalizzati. Porta spesso alla morte del neonato.

LISTERIOSI ADULTA:

a meno che non attacchi un paziente immunodepresso, questo microorganismo difficilmente può dare infezioni gravi; alcuni quadri associati sono:

- meningite purulenta.
- meningo encefalite.
- Setticemia.

Presenta un tasso di mortalità abbastanza elevato.

INDAGINI DI LABORATORIO:

La ricerca di questo tipo di microorganismi risulta possibile, generalmente si eseguono, una volta noto il difetto diagnostico:

- esame colturale particolare, eseguito in questo modo:
 - si pone il campione in un TERRENO LIQUIDO che viene posto:
 - in sospensione.
 - mantenuto a 4 gradi per 1-10 giorni.
 - si utilizza quindi un TERRENO SOLIDO, generalmente agar sangue, a livello del quale OGNI GIORNO VIENE POSTO PARTE DEL CAMPIONE COLTIVATO IN VITRO.
- identificazione risulta facile a seguito della coltivazione:
 - la leisteria si muove in modo peculiare: si muove roteando. Se posto in un campione SEMISOLIDO questo microorganismo ASSUME UNA TIPICA CONFORMAZIONE AD OMBRELLO.
 - presenta capacità cataboliche peculiari.

I CORINEBATTERI:

Si tratta di batteri che non creano oggi grandi problemi grazie alla introduzione di VACCINAZIONI EFFICACI, soprattutto per quanto riguarda la DIFTERITE: questa vaccinazione va eseguita costantemente, infatti:

- la patologia non è più presente sostanzialmente nel nostro paese.
- il batterio è presente costantemente nell'ambiente.

in questo caso la vaccinazione non è, come per il vaiolo per esempio, sulla base del microorganismo, ma CONTRO LA TOSSINA CHE IL MICROORGANISMO PRODUCE; una vaccinazione di questo tipo ha una forte capacità preventiva rispetto alla attività infettiva, ma non elimina la popolazione batterica.

In linea generale si tratta di:

- BASTONCINI GRAM POSITIVI O A GRAM VARIABILE.
- presentano una MORFOLOGIA CLAVATA.
- sono spesso DISPOSTI A DARE FORME REGOLARI visibili al microscopio come V, palizzate o ideogrammi cinesi.
- SPESSO PRESENTANO INSERZIONI DI GRANULI METACROMATICI: si tratta di accumuli citopasmatici di RISERVA.
- IMMOBILI.
- ASPORIGENI.
- PRIVI DI CAPSULA.
- CATALASI POSITIVI.

LA DIFTERITE:

sono microorganismi docili: il patogeno si pianta a livello dell'ARCO FARINGO TONSILLARE e si moltiplica e agisce LOCALMENTE PRODUCENDO LA TOSSINA CHE VIENE INFINE DISPERSA IN TUTTO L'ORGANISMO tramite la circolazione.

La malattia procede come segue:

- portatore sano o soggetto malato tramite aerosol genera il CONTAGIO INTERUMANO.
- il microorganismo si pianta a livello:
 - delle TONSILLE.
 - del NASOFARINGE.
 - della CUTE: questo avviene unicamente nei paesi caldi.
- SI FORMANO DELLE PSEUDOMEMBRANE TONSILLARI che sono differenti da quelle dello streptococco, sono infatti:
 - solide.
 - se si cerca di staccarle si genera una piccola emorragia locale.
 - sono potenzialmente pericolose in quanto CON IL LORO DISTACCO TALI MEMBRANE POSSONO PORTARE AL SOFFOCAMENTO DEL BAMBINO.



Rigonfiamento tonsillare tipico della difterite.
immagine tratta da wikipedia

A seguito della infezione si genera un rigonfiamento notevole al livello del

collo.

- LA TOSSINA PRODOTTA, oltre a generare la placca, diffonde in circolo e si porta a.
 - MIOCARDIO.
 - RENE.
 - FEGATO.
 - SURRENE.
 - SISTEMA NERVOSO.



Colonie di corinebatterium e lesione cutanea da difterite, una manifestazione tipica dei paesi caldi.

immagine tratta da wikipedia
immagine tratta da wikipedia



LA TOSSINA:

tale tossina agisce bloccando la sintesi proteica:

- localmente producendo le PSEUDOMEMBRANE.
- Si tratta di una tossina PANCOPA: presenta RECETTORI OVUNQUE e teoricamente tutti i tessuti potrebbero esserne interessati, ma con effetti differenti:
 - il fegato produce una enorme quantità di proteine di importanza sistemica, di conseguenza un interessamento di questo organo sarà quasi sicuramente deleterio.
 - i tessuti connettivi strutturali, come il tessuto osseo, sono chiaramente meno interessati dalla attività di questa tossina.

si tratta di una TOSSINA DI DERIVAZIONE FAGICA.

IL VACCINO:

il vaccino è stato elaborato A PARTIRE DA UNA TOSSINA RESA INEFFICACE, UNA ANOTOSSINA, che viene RICONOSCIUTA E COMBATTUTA NORMALMENTE DAL NOSTRO SISTEMA IMMUNITARIO. L'ultimo caso in Italia non venne riconosciuto a causa di un FALSO CERTIFICATO DI VACCINAZIONE rilasciato da un medico compiacente ad una famiglia di persone che per motivi religiosi rifiutava la vaccinazione; la patologia venne riconosciuta troppo tardi proprio per questo motivo e il paziente morì.

ANALISI DI LABORATORIO:

fondamentalmente possiamo dire che tale microorganismo risulta facilmente coltivabile e identificabile, si possono utilizzare dei terreni di coltura appositi.

Come accennato in precedenza, solo i ceppi LISOGENI PER IL FAGO BETA SONO IN GRADO DI PRODURRE LA TOSSINA; per completare la diagnosi è quindi essenziale DIMOSTRARE IL FATTO CHE IL BATTERIO PRODUCE TALE TOSSINA, questo è possibile

agendo direttamente sul terreno di coltura:

- è possibile:
 - eliminare la parte centrale del campione in agar.
 - inserire nello striscio centrale anticorpi anti tossina.
 - strisciare in senso perpendicolare l'accumulo di anticorpi di modo da far entrare in contatto LA TOSSINA BATTERICA E L'ANTICORPO.
- alternativamente è possibile strisciare il campione e deporre in esso anticorpi anti tossina.

in ogni caso a questo punto la tossina diffonde: con l'incontro delle due componenti a concentrazioni ideali, si osserverà un fenomeno di PRECIPITAZIONE. Chiaramente il test è positivo nel momento in cui vi sia tale precipitazione.

BATTERI ANAEROBI DI INTERESSE CLINICO

si tratta di batteri anaerobi potenzialmente pericolosi a livello clinico. Sicuramente i batteri anaerobi coinvolti in patologie comuni o particolarmente note sono:

- clostridi.
- treponemi.
- borrelie.

visti in precedenza, esistono tuttavia altri e diversi BATTERI DI INTERESSE CLINICO quali:

batteri gram negativi non sporigeni:

- BACTEROIDES: batteri normalmente saprofiti che possono anche AREOTOLLERANTI e proprio per questo possono provocare infezioni del cavo addominale come peritoniti e simili.
- FUSOBACTERIUM si tratta di un batterio coinvolto in infezioni quali:
 - infezioni del tessuto peridontale come legamenti peridontali, alveolo dentario e molto altro.
 - Particolari forme di tromboflebiti note come SINDROME DI LEMIERRE.
- MOBILUNCUS che sembra possa essere coinvolto con la Gardnerella Vaginalis in infezioni vaginali lievi dette vaginosi.

cocchi anaerobi quali:

- PEPTOCOCCUS gram positivo: è associato prevalentemente ad infezioni endogene.
- PEPTOSTREPTOCOCCUS gram positivo, anch'esso associato ad infezioni endogene.
- VEILLONELLA gram negativi: raramente implicata in ENDOCARDITI ed OSTIOMELITI.

ricordiamo inoltre:

- ACTINOMYCES: si tratta di un bastoncino gram positivo, fondamentalmente risulta connesso a patologie DELL'APPARATO RESPIRATORIO, in particolare rispetto a IPERSENSIBILITÀ DI TERZO TIPO come il polmone da contadino; in questo caso il microorganismo cresce nel fieno ammuffito.
- PROPIONIBACTER, anche in questo caso si tratta di un bastoncino gram positivo essenziale per la produzione di formaggi quali EMMENTAL E LERDAMMER.

INFEZIONI ASSOCIATE:

le infezioni associate a questo tipo di batteri sono sicuramente numerose e spesso clinicamente sottostimate; ricordiamo in particolare:

- INFEZIONI RESPIRATORIE quali la polmonite ab ingestis che si osserva spesso:
 - nel soggetto che è stato a rischio di annegamento.
 - nell'alcolista cronico.

fondamentalmente associate a INGESTIONE DI VOMITO o di altri tipi di elementi potenzialmente pericolosi. La frequenza è molto più elevata nel polmone di DESTRA in quanto il bronco di destra stesso PRESENTA UN DIAMETRO MAGGIORE e UNA INCLINAZIONE MINORE RISPETTO ALL'ASSE

TRACHEALE.

- ASCESSI CEREBRALI E EPATICI.
- INFEZIONI POST CHIRURGICHE:
 - addominali.
 - genitali femminili.

INDAGINI DI LABORATORIO:

il prelievo viene eseguito in provette apposite che contengono una sostanza chelante l'ossigeno la cui azione che consente la sopravvivenza del batterio; in ogni caso è indispensabile comunicare il sospetto diagnostico al laboratorio di modo per le particolari condizioni in cui va eseguito il test. In laboratorio è necessario:

- lavorare in assenza di ossigeno.
- isolare il campione in un contenitore apposito.

attraverso poi specifiche analisi biochimiche è possibile arrivare a definire in modo preciso l'identità del batterio.

I VIBRIONI

Si tratta di microorganismi così strutturati:

- bastoncini ricurvi gram negativi, spesso definiti vibrio comme.
- sono flagellati, in particolare sono monotrichi.
- asporigeni.
- non capsulati.
- Anaerobi facoltativi.

L'UNICO VIBRIONE DI INTERESSE MEDICO È IL VIBRO CHOLERE: si tratta dell'agente eziologico del COLERA, patologia ancora molto diffusa nel mondo.

CLASSIFICAZIONE:

è possibile classificare questa serie di microorganismi su diverse basi:

- SULLA BASE DELL'ANTIGENE SOMATICO O che definisce diversi gruppi numerati in ordine crescente e molto numerosi, in particolare ricordiamo per il loro interesse dal punto di vista medico:

- O1.
- O139 bengali.

sono gli unici due VIBRIONI CAPACI DI GENERARE IL COLERA: fondamentalmente i due microorganismi sono identici, differiscono solo per l'area di diffusione che per O139 è principalmente il bengala.

- SULLA BASE DI ANTIGENI PROTEICI A, B e C: questi si organizzano a formare genotipi differenti per cui identifichiamo tre differenti gruppi detti:

- ogawa.
- inaba.
- hickojma.

utili prevalentemente dal punto di vista EPIDEMIOLOGICO e relativi unicamente ai gruppi O patogeni.

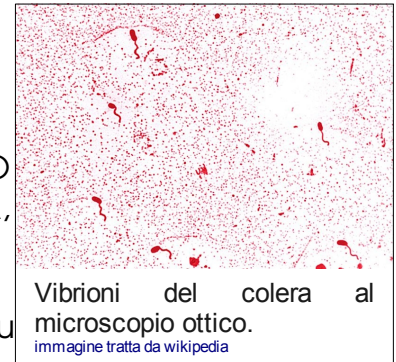
- SU BASE FENOTIPICA relativamente ai due ceppi patogeni possiamo fondamentalmente distinguere:

- VIBRIONE A BIOTIPO NORMALE.
- VIBRIONE A BIOTIPO EL TOR.

questi due microorganismi differiscono per alcune caratteristiche biologiche per cui il VIBRIONE EL TOR risulta oggi dominante nell'ambiente, in particolare:

- È più resistente del vibrione classico.
- permane nell'ambiente per periodi più lunghi.
- è meno aggressivo del ceppo classico, uccide il paziente, ma in misura minore: si tratta di un vantaggio considerevole in quanto SOGGETTI CON SINTOMATOLOGIA MENO MARCATA ed EVENTUALMENTE PORTATORI CON SINTOMATOLOGIA SFUMATA non vengono isolati e curati e di conseguenza continuano a propagare il microorganismo nell'ambiente.

si tratta di una malattia, anche in questo caso, del SUD DEL MONDO, molto



presente soprattutto:

- IN ESTREMO ORIENTE.
- NELLE AMERICHE dove è abbastanza presente soprattutto in PERÙ: questo è legato al fatto che l'economia peruviana si basa molto su PESCE E MOLLUSCHI soprattutto crudi, tipici vettori di patologie quali:
 - colera.
 - salmonella.
 - epatite A.
- IN AFRICA.

LA MALATTIA:

fondamentalmente possiamo dire che tale patogeno:

- aderisce alla parete intestinale provocando alcuni sintomi non molto gravi.
- COMINCIA A PRODURRE UNA TOSSINA che CAUSA UNA GRAVE DIARREA.

l'incubazione è abbastanza breve e la patologia può divenire anche molto grave: IL PAZIENTE ARRIVA A PERDERE ANCHE 12 LITRI DI LIQUIDI TRAMITE LE FECI IN UN SOLO GIORNO, un sesto del peso di una persona normale.

LA TOSSINA:

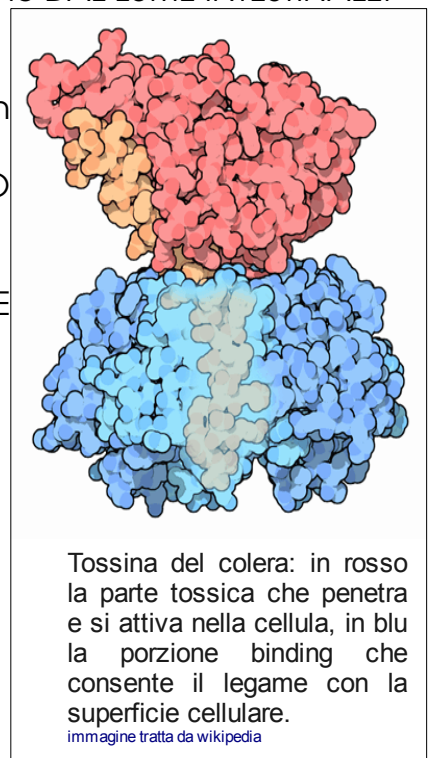
gli enterociti, grazie alle pompe attive ad ATP, recuperano DAL LUME INTESTINALE:

- ioni quali sodio cloro e potassio.
- acqua.

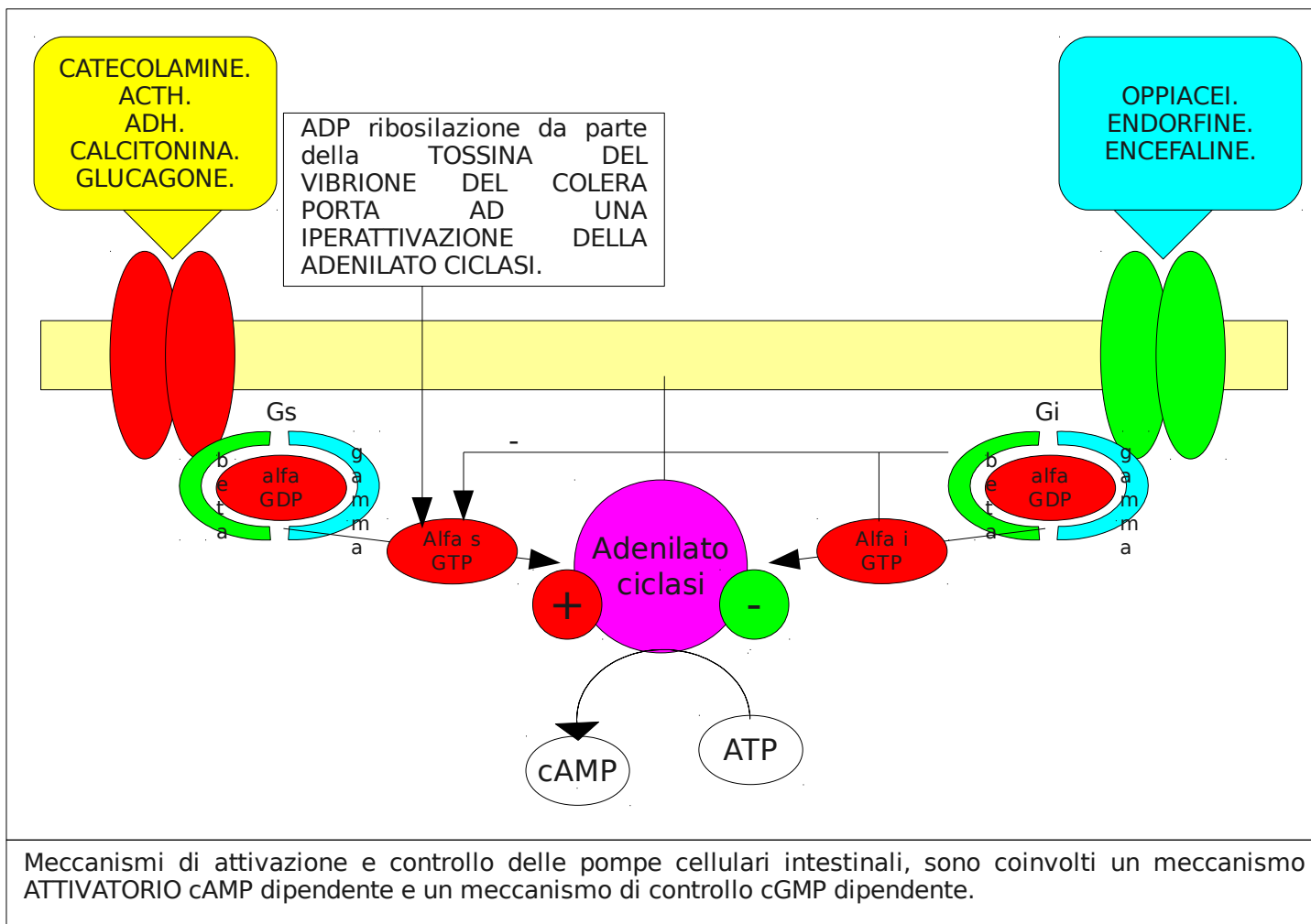
a seguito della attivazione della tossina assistiamo ad un quadro di questo tipo:

- NON VIENE PIÙ RICHIAMATA ACQUA DAL TUBO DIGERENTE.
- VENGONO PERDUTI IONI E LIQUIDI DAL SANGUE.

LA TOSSINA STRUTTURALMENTE RISULTA COSTITUITA DI DUE PORZIONI:



- PORZIONE A che è la parte attiva della molecola ed è l'unica delle due parti a penetrare nella cellula. Tale tossina estrinseca la sua azione in particolare sulla ADENILATO CICLASI dove:
 - L'ADENILATO CICLASI VIENE IPERSTIMOLATA.
 - SI PRODUCE UNA GRANDE QUANTITÀ DI cAMP.
 - LE POMPE VENGONO SREGOLATE.
 - SI PERDE UNA GRANDISSIMA QUANTITÀ DI LIQUIDO.
- PORZIONE B o binding: si tratta di una struttura pentamerica che consente il legame con il GANGLIOSIDE GM1 e supporta strutturalmente la parte attiva



Una diarrea di tale portata può generare delle conseguenze anche gravi:

- DISIDRATAZIONE.
- ANOMALIE DELLA COMPOSIZIONE DEL SANGUE legate alla perdita di LIQUIDO E IONI:
 - aumenta l'ematocrito in modo considerevole: si ha un incremento del rischio di trombosi e di danni cardiovascolari in generale.
 - la perdita di elettroliti quali:
 - sodio.

- potassio, la cui perdita porta a turbe della ECCITABILITÀ.
- cloro.
- bicarbonato che porta il paziente ad una ACIDOSI METABOLICA che può divenire anche letale.

le feci assumono un carattere liquido e biancastro e vengono dette FECI ALL'ACQUA DI RISO.

la MORTALITÀ di questa patologia, se non si interviene, è del 50-60%.

LA DIAGNOSI LABORATORISTICA:

il laboratorio generalmente non viene chiamato in causa, ove presente, in quanto la patologia è palesemente riconoscibile. Nel caso in cui vi siano dei dubbi:

- si inseriscono le FECI IN UN TERRENO DI ARRICCHIMENTO che consente la moltiplicazione unicamente del vibrione; il terreno viene scelto sulla base del fatto che QUESTO MICROORGANISMO:
 - si accontenta di poco, cresce in una soluzione di acqua peptonata.
 - sopporta molto bene il pH alcalino.
 - SI SEMINA il campione ARRICCHITO in terreni particolari CHE SUPPORTANO LA CRESCITA DEL VIBRIONE, si utilizza in particolare il TBCS terreno selettivo che presenta le seguenti caratteristiche:
 - alcalino, il pH basico è infatti batteriostatico rispetto ad altri batteri che possono essere eventualmente presenti.
 - bile che inibisce la crescita degli enterococchi che possono essere fisiologicamente presenti nel campione.
 - saccarosio che viene fermentato dal vibrione.
- eseguita la coltura si conferma con test quali:
- ossidasi.
 - sieroagglutinazione.

LA TERAPIA ANTIBIOTICA è, in ogni caso, secondaria rispetto alla gestione della malattia: È ESSENZIALE IMPEDIRE CHE IL PAZIENTE VADA INCONTRO A SQUILIBRI ELETTROLITICI GRAVI.

Ricordiamo infine l'esistenza di un VACCINO che non è purtroppo MOLTO EFFICACE.

YERSINIE

Le yersinie sono microorganismi della famiglia degli enterobatteri; si tratta di:

- coccobacilli gram negativi.
- Immobili.
- Asporigeni.
- Capsulati.
- Anaerobi facoltativi.
- Spesso catalasi positivo

complessivamente riconosciamo la presenza di tre specie patogene per l'uomo:

1. PESTIS.
2. PSEUDOTUBERCOLOSIS.
3. ENTEROCOLICA.

La yersinia pestis è l'agente eziologico della PESTE BUBBONICA, malattia storicamente fondamentale: si stima che nel medioevo tale patologia uccise la metà dell'intera popolazione Europea. Per quanto riguarda Pseudotubercolosis e Enterocolica, sono agenti eziologici delle Yersinosi, malattie dell'apparato gastroenterico e per esse la trasmissione è ORO FECALE.



LE YERSINOSI:

la yersiniosi è una patologia particolarmente presente a livello dei paesi sviluppati e si manifesta in questo modo:

- 4-7 giorni di incubazione.
- Si sviluppa una patologia caratterizzata da sintomi quali:
 - febbre.
 - dolore addominale.
 - Diarrea.
- La durata può arrivare anche a 4 settimane.

A seguito della colonizzazione intestinale queste due yersinie possono causare anche una LINFOADENITE MESENTERICA che può essere confusa con una appendicite acuta.

YERSINIA PSEUDOTUBERCOLOSIS:

si contrae per via orofecale generalmente ma anche per contatto con animali infetti; nello specifico può causare:

1. ADENITE MESENTERICA.
2. APPENDICITE ACUTA.

YERSINIA ENTEROCOLICA:

si contrae mediante assunzione di cibi contaminati, si tratta di un patogeno che colpisce prevalentemente bambini causando:

1. diarrea.
2. Appendicite acuta.
3. Dissenteria.
4. Enterite.

5. Poliartrite.
6. Adenite mesenterica.

FATTORI DI VIRULENZA:

tali batteri presentano fattori di virulenza considerevoli quali:

- numerose adesine.
- Fattori antifagocitici codificati da un plasmide tipico di queste specie batteriche.
- Fattori capaci di stimolare la apoptosi dei macrofagi.

LA YERSINIA PESTIS:

le patologie generate da questo tipo di batterio sono fondamentalmente tre:

- PESTE BUBBONICA.
- PESTE POLMONARE.
- PESTE SETTICEMICA.

PESTE BUBBONICA:

si tratta di una infezione che si propaga attraverso i vasi linfatici fino ai linfonodi; tale patologia è veicolata da una PULCE: questa pulce infetta porta il batterio a livello intestinale che al momento del morso stimola un rigurgito di sangue infetto che si riversa nella lesione provocata dal morso stesso. Il batterio a questo punto:

- raggiunge il circolo LINFATICO.
- Si porta ai linfonodi vicini.
- Resiste alla fagocitosi e si moltiplica all'interno del fagocito eventualmente, di fatto provoca una infezione linfonodale che si manifesta come:
 - rigonfiamento linfonodale dolente soprattutto a livello di:
 - ascelle.
 - Inguine.
 - Collo.
 - Tosse.



Si tratta di una NECROSI COLLICOATTIVA del linfonodo stesso che si traduce abbastanza rapidamente in una FISTOLA.

Quello che rende tale forma di PESTE DIFFERENTE DALLA PESTE SETTICEMICA è proprio la TOSSE: in questo periodo, che prelude spesso alle manifestazioni sistemiche e polmonari, IL PAZIENTE È ESTREMAMENTE CONTAGIOSO.

Il batterio è capace inoltre di generare fenomeni quali:

- LESIONI NECROTICO EMORRAGICHE CUTANEE ed EMORRAGIE DIFFUSE.
- RESISTENZA ALLA FAGOCITOSI per cui la yersinia stessa risulta veicolata in circolo dal macrofago stesso.
- PRODUCE INOLTRE UNA TOSSINA che:
 - inibisce la FOSFORILAZIONE OSSIDATIVA.
 - Presenta attività EPATOTOSSICA e CAPILLAROTOSSICA.

SE NON TRATTATA PRONTAMENTE TALE PATOLOGIA HA UNA MORTALITÀ DEL 75%.

TRATTAMENTO:

i rari casi oggi riscontrati vengono curati senza problemi grazie a farmaci aminoglicosidici come streptomina e gentamicina o tramite tetracicline.

PESTE SISTEMICA:

si tratta di una setticemia molto grave causata dal riversarsi nel sangue di una grande quantità di Yersinie: come tutti i batteri gram negativi, anche questo microorganismo possiede una LPS e provoca di conseguenza

- CID coagulazione intravascolare disseminata.
- INCREMENTO DELLA TEMPERATURA CORPOREA.
- SHOCK TOSSICO.

Altri sintomi non associati alla LPS possono essere:

- delirio.
- Tachicardia.

In questa fase l'infezione si porta a fegato, milza, polmone e meningi.

PESTE POLMONARE:

si tratta di una infezione polmonare da Yersinia pestis; fondamentalmente può presentare due cause principali:

- infezione diretta del TESSUTO POLMONARE legata alla inalazione del batterio in forma di aerosol causato, per esempio, dalla tosse di un malato di peste bubbonica.
- Ulteriore complicazione di una setticemia già presente nel paziente.

Tale patologia si manifesta in due stadi distinti e molto ravvicinati tra loro:

- PRIMO STADIO caratterizzato da:
 - febbre.
 - Debolezza.
 - Emicrania.
- SECONDO STADIO che presenta invece sintomi maggiormente caratteristici quali:
 - DISPNEA.
 - DOLORE TORACICO.
 - TOSSE.
 - EMOTTISI.

La causa prima è una BRONCOPOLMONITE A FOCOLAI MULTIPLI.

In caso di non intervento nelle prime 24 ore, il paziente muore per insufficienza respiratoria o shock.

TRATTAMENTO:

i trattamenti antibiotici, come accennato, devono essere somministrati entro le 24 ore dall'inizio del sintomo; è possibile agire con:

- streptomina.
- Gentamicina, aminoglicosidico.
- Tetracicline.
- Cloranfenicolo.

Chi sia entrato in contatto con il paziente, viene generalmente sottoposto ad un trattamento antibiotico preventivo di sette giorni.

Nel caso in cui non siano disponibili trattamenti o non vi sia un intervento attivo, la

Giordano Perin; batteriologia speciale 22: le yersinie

mortalità rasenta il 100%.

DIAGNOSI IN LABORATORIO:

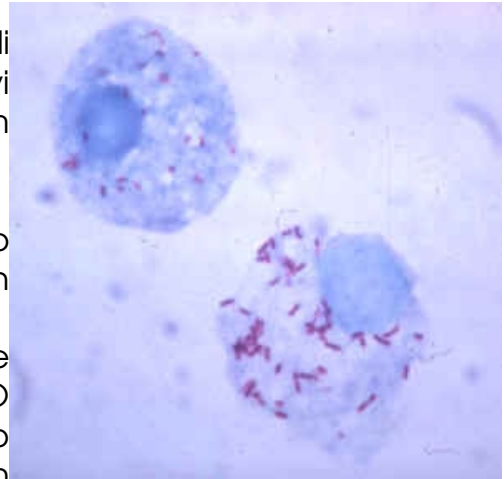
le yersinie risultano visualizzabili tramite la semina in terreni contenenti EMINE per cui si formano COLONIE DI COLORE ROSSO. Una volta effettuata la coltura, è possibile:

- IDENTIFICARE IL BATTERIO per AGGLUTINAZIONE CON ANTICORPI SPECIFICI.
- IDENTIFICARLO TRAMITE PROVE BIOCHIMICHE.

RICKETTSIAE:

si tratta anche in questo caso di PARASSITI INTRACELLULARI OBBLIGATI, sono infatti:

- piccoli coccobacilli pleiomorfi.
- Difficilmente colorabili con la colorazione di gram, appaiono come gram negativi eccetto la coxiella che è invece gram positiva.
- si moltiplicano per scissione binaria.
- Sono coltivabili con uovo di pollo embrionato o in colture cellulari umane in vitro, non in terreni normali.



alcune di queste specie hanno decimato le truppe della prima guerra mondiale; SONO SPESSO VEICOLATE DA PIDOCCHI che trasferiscono i microorganismi da un individuo all'altro. Oggi in molti paesi del mediterraneo provocano la FEBBRE BOTTONOSA, ma tra le rickettsiosi possiamo trovare anche alcune forme di tifo.

GENETICA:

si tratta di microorganismi strutturalmente molto particolari, a livello GENETICO sono ESTREMAMENTE SIMILI AI MITOCONDRI, risulta infatti privo di geni per:

- organizzazione del materiale genetico.
- Produzione e organizzazione del materiale proteico.
- Glicolisi anaerobia.

Oltre ad essere estremamente simile ai mitocondri, questi microorganismi presentano delle forti somiglianze con virus quali il virus dell'HIV: sembra che pazienti immunizzati da una infezione da rickettsia sia capaci di rispondere in modo migliore ad un infezione da HIV. Questo fatto sembra sia legato ad una cross reattività tra antigeni molto simili tra loro esposti da entrambi gli organismi.

LA FEBBRE BOTTONOSA:

si tratta di una patologia che presenta un decorso di questo tipo:

- a seguito della inoculazione da parte dell'animale vettore si ha una INCUBAZIONE DI 6-10 GIORNI.
- nella regione del morso, dove c'è la lesione cutanea, si HA SVILUPPA UNA LESIONE NECROTICA DETTA TACHE NOIR. La malattia in questione è trasmessa da *Rhipicephalus sanguineus*, una zecca che attacca soprattutto i cani.
- FEBBRE che presenta:
 - INIZIO BRUSCO.
 - DURATA DI 4-8gg.
- SINTOMI DI ACCOMPAGNAMENTO SONO:
 - cefalea.
 - mialgia.
 - Artralgia.

- Fotofobia.
- COMPARE QUINDI UN ESANTEMA SIGNIFICATIVO che:
 - inizia dopo 4-5 giorni.
 - presenta pochi elementi GRANDI E LARGHI MACULO PAPULOSI DI COLORE ROSSO VINOSO.
 - si sviluppa cronologicamente in questo modo:
 - arto inferiore.
 - tronco.
 - arti superiori.

in alcuni casi questo tipo di esantema PUÒ NON EVOLVERSI: LE RICKETTSIE HANNO come bersaglio LE CELLULE DEI VASI SANGUIFERI per cui spesso provocano delle VASCULITI CHE SI MANIFESTANO COME GROSSE PAPULE ESANTEMICHE. Ad una analisi specifica possiamo scoprire che L'ESANTEMA È COSTITUITO DA:

- PARTE DELLA PARETE DI UN VASO.
 - ASSOCIATO AD UN INFILTRATO POLIMORFONUCLEATO CONSIDEREVOLE.
- nel caso in cui vengono colpiti vasi di altri organi si possono manifestare:
- encefaliti.
 - miocarditi.
 - Patologie anche gravi correlate ad altri organi.

IN LABORATORIO:

NON SI ESEGUONO DIAGNOSI DIRETTE A CAUSA DELLA ESTREMA PERICOLOSITÀ DI QUESTI MICROORGANISMI, si eseguono invece DIAGNOSI INDIRETTE TRAMITE LA REAZIONE DI WEIL-FELIX per cui si cercano anticorpi TRAMITE AGGLUTINAZIONE CON:

- OX19.
- OX2.
- OX-K.

SI TRATTA DI ANTIGENI DI UN ALTRO BATTERIO, il PROTEUS, per cui fondamentalmente si registra una cross reattività degli anticorpo anti rickettsia. Ricordiamo infine che la FEBBRE Q, causata dalla COXIELLA BURNETII, era considerata una patologia da rickettsia prima di scoprire che la burnetii è una coxiella.

03-VIROLOGIA SPECIALE

I MYXOVIRUS

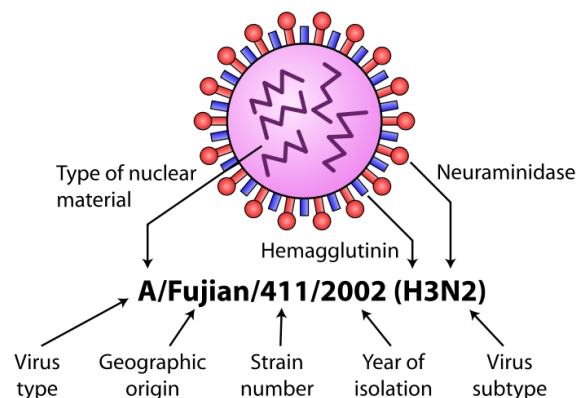
tra i diversi virus appartenenti a questa famiglia possiamo trovare:

- ORTHOMYXOVIRIDAE responsabili di tre differenti tipi di influenza:
 - influenza A dal carattere particolarmente mutevole.
 - influenza B.
 - influenza C.
- PARAMIXOVIRIDAE tra cui riscontriamo:
 - PARAMIXOVIRUS
 - virus parainfluenzali.
 - virus della parotite.
 - MORBILLIVIRUS virus del morbillo.
 - PNEUMOVIRUS virus respiratorio sinciziale.

ORTHOMYXOVIRUS:

Si tratta di virus che strutturalmente presentano:

- forme rotondeggianti o filamentose di 90-120nm.
- un capsid a SIMMETRIA ELICOIDALE
- un PERICAPSIDE.
- Un genoma che risulta organizzato in questo modo:
 - RNA MONOCATENARIO.
 - A POLARITÀ NEGATIVA.
 - SEGMENTATO a 7 segmenti per il virus influenzale C o 8 segmenti per i virus influenzali A e B.

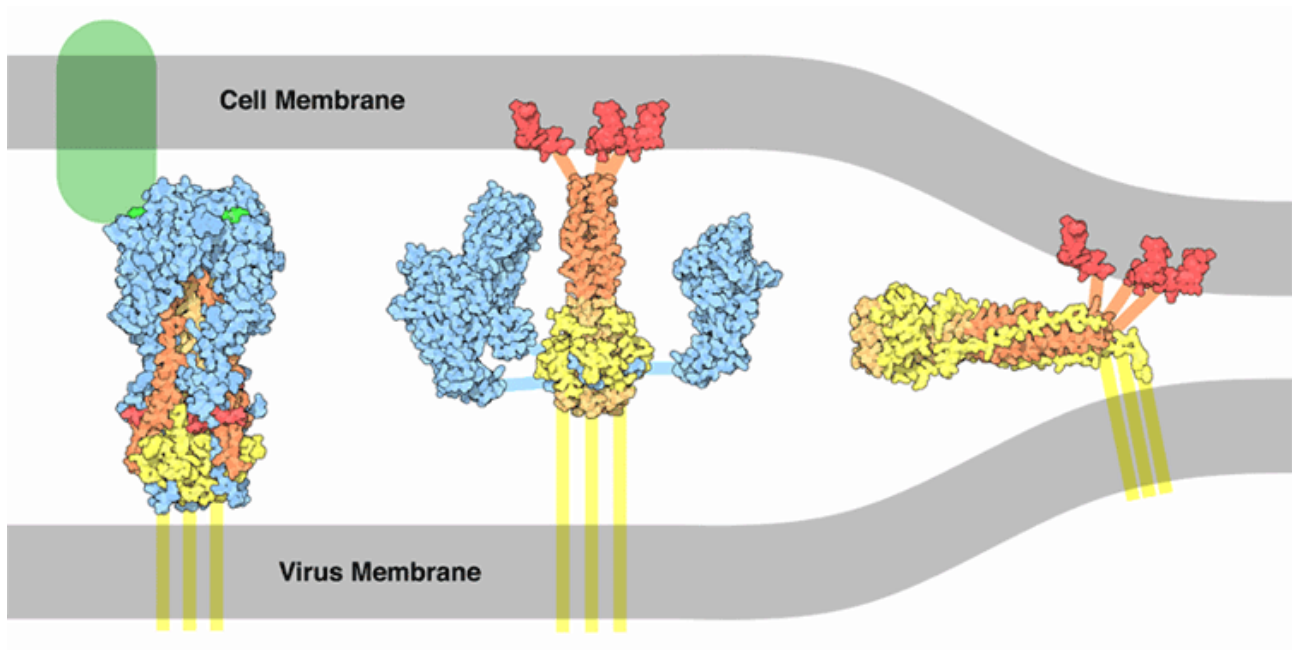


Ricordiamo che a livello molecolare:

- il pericapside avvolge il virus e presenta due proteine di adesione strutturali:
 - HAEMOAGGLUTININA che presenta la sigla H.
 - NEURAMINIDASI che presenta la sigla N.sono fondamentali nei processi di ADESIONE DEL VIRUS, in particolare tali molecole si relazionano con L'ACIDO SIALICO o NEURAMINICO presente a livello cellulare.
- una proteina della matrice si colloca tra capsid e pericapside.
- L'RNA SI PRESENTA SEGMENTATO: si tratta di un complesso di segmenti di materiale genico; tale organizzazione favorisce, come vedremo, fenomeni di ricombinazione.

HAEMOAGGLUTININA e NEURAMINIDASI:

si tratta di strutture proteiche che presentano DEI PUNTI CALDI DI MUTAZIONE che le rendono particolarmente variabili. Sono naturalmente espresse a livello del PERICAPSIDE del virus E SVOLGONO UNA FUNZIONE FONDAMENTALE NEI PROCESSI DI ADESIONE ALLA CELLULA.

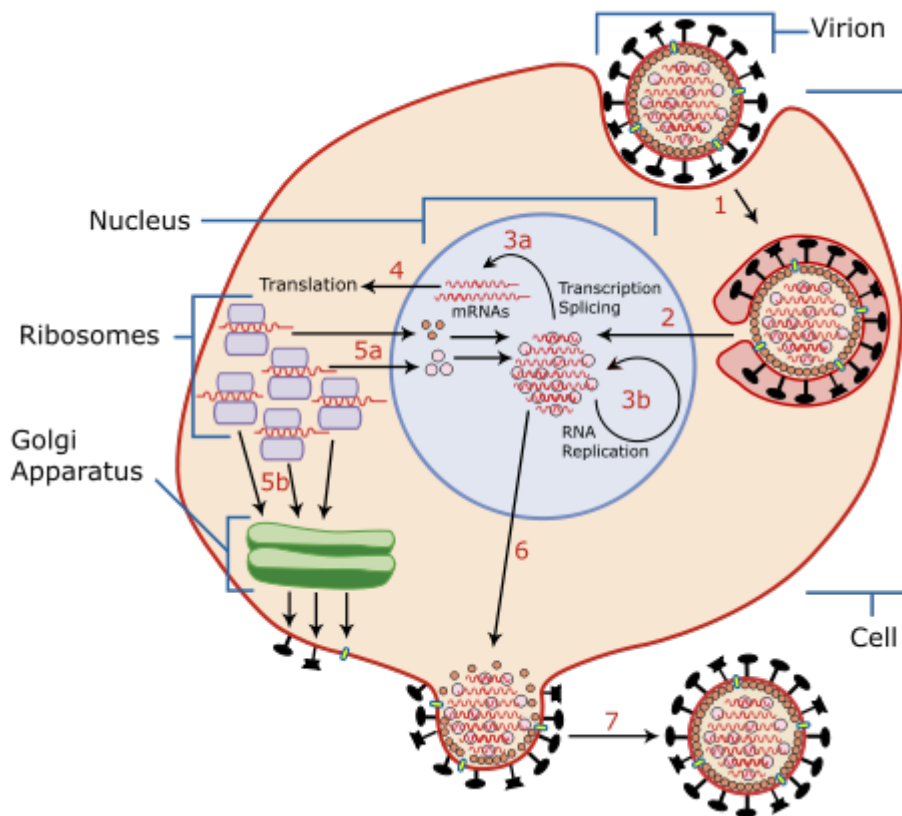


la replicazione di questi virus è abbastanza complessa:

- il virus riconosce la cellula da infettare tramite le due proteine haemoagglutinina e neuroaminidasi.
- fonde il suo pericapside con la membrana citoplasmatica.
- entra nella cellula e libera i suoi RNA all'interno del citoplasma.
- FORMA PER PRIMA COSA IL SEGMENTO COMPLEMENTARE a quello importato nella cellula, cioè l'RNA POSITIVO: questo avviene grazie ad una RNA POLIMERASI RNA DIPENDENTE. Questo processo avviene nel nucleo.
- Vengono sintetizzate le proteine virali; di queste:
 - alcune vengono indirizzate alla membrana della cellula: si tratta delle PROTEINE PERICAPSIDICHE in particolare LE PROTEINE H ed N.
 - altre vengono utilizzate per comporre le strutture virali.
- una proteina detta proteina M si addossa alla membrana cellulare modificata.
- il capsido neosintetizzato si avvicina alla membrana.
- il virus per gemmazione esce dalla cellula.

LA CELLULA MUORE anche e soprattutto per la reazione citotossica DEL NOSTRO ORGANISMO, in ogni caso anche il virus ha effetto citopatico di per sé stesso.

Il risultato di una infezione di questo tipo è generalmente una NECROSI DELL'EPITELIO RESPIRATORIO.



LA MUTABILITÀ DEL VIRUS INFLUENZALE:

Il virus influenzale muta, generalmente può subire due processi di mutazione distinti:

- **ANTIGENIC DRIFT** si tratta di un processo legato a MUTAZIONI DIRETTE: geni che codificano per proteine H e N MUTANO IN UNO DEI NUMEROSI HOT SPOT; si tratta di una deriva mutazionale che porta a modificazioni di anno in anno maggiori. di conseguenza:
 - il virus di un anno precedente, mutato, viene riconosciuto, o comunque viene combattuto.
 - il virus mutato dopo alcuni anni, risulta meno riconoscibile da parte del nostro sistema immunitario.

A seguito di questo tipo di fenomeni si hanno epidemie ogni 3-4 anni.

- **ANTIGENIC SHIFT** si tratta di un fenomeno di RICOMBINAZIONE GENICA; come si accennava in precedenza tale fenomeno risulta favorito dal fatto che IL GENOMA È SEGMENTATO: diversi virus possono scambiare tra loro sequenze geniche per H e N per esempio. Mutazioni di questo tipo sono molto più consistenti dal punto di vista fenotipico e danno pandemie circa ogni 10-15 anni.

SUBSTRATI DI MUTAZIONE:

Ricordiamo che il maiale è un animale a livello del quale facilmente un virus umano può acquisire geni da un altro virus MODIFICANDOSI E DIVENENDO INFETTIVO PER L'UOMO nonché TRASMISSIBILE; fondamentalmente si tratta di un

substrato di mutazione che favorisce l'adattamento. Sembra che la gran parte di queste infezioni tragga origine in CINA soprattutto per la presenza di un ambiente favorevole dove maiali, uomini e volatili vivono in stretto contatto e si verificano fenomeni di questo tipo:

- un virus influenzale passa dal pollo al maiale.
- un virus influenzale passa dall'uomo al maiale.
- nelle cellule di maiale avviene la RICOMBINAZIONE.

A seguito di eventi di questo tipo nasce un nuovo VIRUS INFETTANTE PER L'UOMO ed EVENTUALMENTE PANDEMICO.

CASI DI INFLUENZA PANDEMICA:

LA SPAGNOLA:

si tratta probabilmente della più grande epidemia influenzale dal 1900 ad oggi; tale pandemia soprattutto nel biennio 1918-1919 fece una enorme quantità di vittime stimate ad oggi da 50 a 100 milioni. La mortalità fu elevatissima soprattutto nelle fasce d'età da 0 a 5 anni, da 15 a 45 anni e da 75 anni in su: dobbiamo tenere in considerazione il fatto che all'epoca gli individui di età da 15 a 45 anni erano sottoposti a stress bellici notevoli. Venne definita HswN1 (HswineN1), si trattava di una pandemia di derivazione orientale, assunse il nome di spagnola in quanto solo in Spagna, che non era in guerra all'epoca, si parlava del virus. Molte di queste infezioni si COMPLICARONO in infezioni BATTERICHE tanto che si arrivò a pensare che la malattia fosse BATTERICA e si attribuì la sua genesi all'HEMOFULUS che venne per questo definito INFLUENZAE.

ASIATICA:

altra pandemia molto importante venne definita asiatica e si sviluppò dal 1956 al 1958; il virus era un virus influenzale A di tipo H2N2. Il numero di morti si aggirò intorno ai due milioni.

AVIARIA:

Casi di una certa gravità si sono verificati qualche anno fa, ma il virus fondamentalmente ERA CAPACE DI COLPIRE L'UOMO ma SENZA RENDERLO INFETTANTE: il virus non era in grado fondamentalmente di propagarsi nella popolazione.

LA DIAGNOSI INFLUENZALE:

generalmente si esegue un TAMPONE dove si preleva un virus che viene posto sotto coltura, in particolare:

- con un uovo di pollo embrionato: si tratta del metodo migliore per coltivare cellule e infettarle con un virus.
- in associazione a fibroblasti umani o di scimmia o di topo; si utilizzano in particolare CELLULE PRELEVATE DA RENE DI SCIMMIA.

A seguito della coltivazione, si possono eseguire PROVE IMMUNOLOGICHE: si inibisce fondamentalmente la EMOAGGLUTINAZIONE e si osserva come il virus perda adesività.

Sono possibili anche metodi di DIAGNOSI INDIRETTA, fondamentalmente si possono eseguire prove immunoenzimatiche, in particolare :

- fissazione del complemento.
- EIA o enzyme immuno assay.

UTILIZZO DI EMOAGGLUTINAZIONE E EMOADSORBIMENTO:

si tratta di due tecniche essenziali per la individuazione di questo tipo di virus e non solo, sostanzialmente sfruttano la capacità del virus di dare fenomeni di emoagglutinazione:

- EMOAGGLUTINAZIONE: sfrutta la capacità del virus di legare globuli rossi in complessi agglutinandoli, fondamentalmente si pongono in un campione virus e globuli rossi così da poter valutare la formazione di un AGGLUTINATO. Il test vero e proprio si esegue inserendo anticorpi noti nel campione:
 - se l'anticorpo è compatibile con il virus, L'EMOAGGLUTINAZIONE NON AVVERRÀ.
 - Se l'anticorpo non è compatibile, osserveremo in ogni caso AGGLUTINAZIONE.
- EMOADSORBIMENTO: si sfrutta la capacità del virus di far esprimere ad una colonia di cellule la emoagglutinina, fondamentalmente:
 - si pone sul fondo del contenitore un campione di cellule.
 - Si contaminano con il virus: queste esporranno al emoagglutinina.
 - Si inseriscono nel campione globuli rossi che reagiscono con la emoagglutinina dando fenomeni di EMOADSORBIMENTO.

Analogamente al caso precedente è possibile inibire tali fenomeni tramite l'utilizzo di anticorpi appositi.

LA VACCINAZIONE.

Le vaccinazioni per questo tipo di microorganismi si preparano tramite virus ucciso arricchito con adiuvanti; chiaramente una miscela oleosa di questo tipo può essere somministrata unicamente per via intramuscolare.

I PARAMIXOVIRUS:

I VIRUS PARAINFLUENZALI:

si tratta di virus molto diffusi che provocano infezioni delle vie respiratorie alte generalmente; ricordiamo:

- VIRUS PARAINFLUENZALE 1 causa spesso di:
 - laringotracheite soprattutto nel bambino.
 - Faringite.
 - tracheobronchite.
- VIRUS PARAINFLUENZALE 2 causa di lievi sindromi respiratorie alte.
- VIRUS PARAINFLUENZALE 3 spesso causa di:
 - laringotracheite soprattutto nel bambino.
 - Faringite.
 - tracheobronchite.
- VIRUS PARAINFLUENZALE 4 causa di lievi sindromi respiratorie.

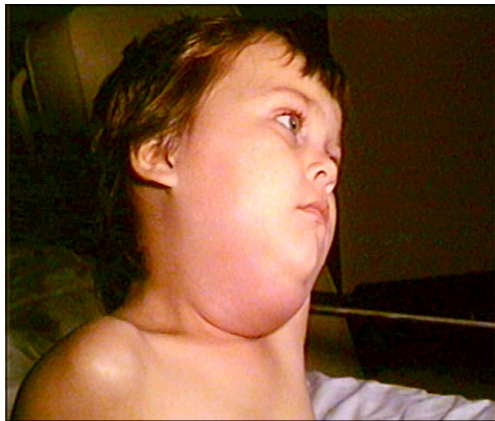
Si tratta in ogni caso praticamente sempre di SINDROMI LIEVI CHE NON RICHIEDONO UN INTERVENTO CLINICO.



LA PAROTITE:

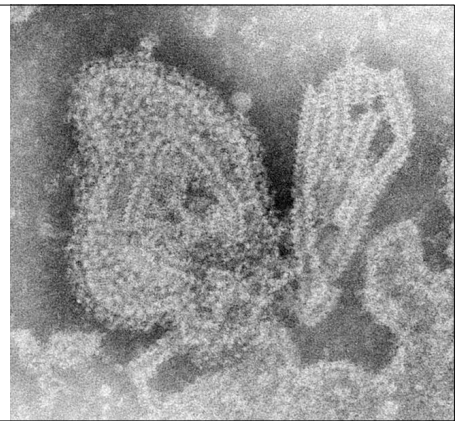
Si tratta di una infezione che interessa generalmente le PAROTIDI, ghiandole salivari maggiori:

- il virus si pianta nella zona della orofaringe.
- Ha un periodo di INCUBAZIONE DI 12-29 giorni.
- A seguito del periodo di incubazione, molto variabile in durata, COMPARE LA SINTOMATOLOGIA della malattia:
 - TUMEFAZIONE DELLE GHIANDOLE SALIVARI E DELLA PAROTIDE SOPRATTUTTO: tale tumefazione risulta molto visibile tanto che la palpazione non è necessaria.
 - FEBBRE.
 - DOLORE che genera difficoltà di DEGLUTIZIONE E FONAZIONE.QUESTO quadro dura circa 7-10 giorni.
- POSSONO INSORGERE complicanze significative, soprattutto:
 - MENINGITE VIRALE a liquor limpido e poco aggressiva, si risolve da sola ed è molto frequente.
 - ORCHITE ed OOFORITE: grave soprattutto nell'uomo in quanto se contratta in età adulta genera fenomeni di sterilità; colpisce circa il 20-30% dei casi di maschi affetti da parotite. Il danno è generato dalla capacità del virus di distruggere le cellule germinative. Nella donna, per ragioni istologiche e anatomiche, tale infezione non ha nessun effetto.
 - PANCREATITE: molto grave e per fortuna poco frequente, una patologia del genere diviene pericolosa, infatti assistiamo a:
 - lisi delle cellule pancreatiche.
 - possibile liberazione di enzimi digestivi.
 - possibile autodigestione del tessuto ghiandolare.Generalmente tali complicazioni si manifestano 1-3 settimane dopo la comparsa dei sintomi della parotite e, a volte, anche in assenza dei sintomi da parotite.



Bambino colpito da parotite, il rigonfiamento è molto visibile. A destra una immagine di microscopia elettronica a scansione del virus della parotite.

immagine tratta da wikipedia
immagine tratta da wikipedia



tale infezione generalmente è chiara dal punto di vista sintomatologico, è possibile in ogni caso in laboratorio eseguire diagnosi su campioni di questo tipo:

- SALIVA.
- LIQUOR.
- URINE.

La identificazione del virus si può eseguire:

- tramite ISOLAMENTO DI COLTURE PRIMARIA DI RENE DI SCIMMIA:
 - CELLULE GIGANTI SINCIZIALI si tratta di cellule di grandi dimensioni.
 - EMOAGGLUTINAZIONE.
- ISOLAMENTO IN VACUITÀ ALLANTOIDEA DI UOVO DI POLLO EMBRIONATO e quindi EMOAGGLUTINAZIONE
- INFEZIONE SU CELLULE DELL'OROFARINGE.

naturalmente è possibile eseguire anche ricerca di anticorpi e quindi una diagnosi di tipo indiretto.

La parotite viene spesso definita con il termine ORECCHIONI o MARMOTTINA.

IL MORBILLO:

il morbillo è una tipica malattia dell'infanzia che diviene molto grave soprattutto nei soggetti iponutriti tanto da essere la CAUSA PRIMARIA DI MORTE PEDIATRICA NEI PAESI DEL TERZO MONDO. Complessivamente possiamo ricordare che tale patologia ha una evoluzione di questo tipo:

- presenta un periodo di INCUBAZIONE di circa 7-18giorni.
- A seguito di tale periodo abbiamo la COMPARSA DEI PRIMI SINTOMI che interessano principalmente l'apparato respiratorio, in particolare:
 - FEBBRE.
 - TOSSE.
 - CONGIUNTIVITE.
 - MACCHIE DI KOPLICK: si tratta di macchie grigio biancastre circondate da eritema che si sviluppano sulla mucosa orale, si parla di ENANTEMA ed è l'equivalente dell'esantema maculo papuloso cutaneo ma sulla mucosa del cavo orale, generalmente delle guance. Si tratta di un segno inequivocabile della patologia.



- COMPARSA DELL'ESANTEMA dopo altri 1 o 2 giorni; si tratta di un esantema:
 - MACULO PAPULOSO.
 - CONVERGENTE.
 - Interessa in ordine di tempo TESTA, TRONCO e ARTI.Il bambino assume una colorazione rossa per la convergenza dell'esantema stesso.
- DESQUAMAZIONE che avviene dopo 3-5 giorni dalla comparsa dell'esantema.
- COMPLICANZE POSSIBILI si possono sviluppare dal periodo appena precedente l'esantema a quello appena precedente la fase di desquamazione; in particolare ricordiamo:
 - GRAVE COINVOLGIMENTO POLMONARE legato alla infezione virale stessa e alla sua aggressività.
 - PORPORA TROMBOCITOPENICA che si presenta come una serie di piccole emorragie legate alla mancanza di piastrine.
 - INFEZIONI BATTERICHE IN GENERALE.
 - PANENCEFALITE SCLEROSANTE SUBACUTA: si tratta di una infezione che:
 - colpisce in modo ubiquitario il sistema nervoso.
 - Provoca una sostituzione del tessuto nervoso con tessuto di natura fibrosa.
 - Si definisce subacuta in quanto si ha una degenerazione continua che porta inevitabilmente alla morte.si tratta della complicazione più rara ma sicuramente rappresenta l'evenienza più pericolosa.



A LIVELLO DIAGNOSTICO anche questo virus presenta natura EMOAGGLUTINANTE quindi fondamentalmente i metodi diagnostici si basano sulla individuazione della specifica emoagglutinina esposta.

IL VIRUS RESPIRATORIO SINCIZIALE:

si tratta del virus responsabile di una infezione respiratoria che non provoca nel bambino o nel ragazzo giovane nessun problema, ma che diviene pericolosa rispetto al bambino sotto l'anno di età; fondamentalmente tale patologia si evolve in questo modo:

- presenta un PERIODO DI INCUBAZIONE di 1-4 giorni.
- SI MANIFESTA PER PRIMA COSA COME UNA RINITE.
- SI SVILUPPA IN UNA BRONCHIOLITE o una POLMONITE nell'arco di 1-3 giorni.
- COMPLICANZE POSSIBILI di questa patologia sono:
 - INSUFFICIENZA RESPIRATORIA NEL BAMBINO PIÙ PICCOLO DI UN ANNO DI ETÀ: questo è legato al fatto che la infezione genera inevitabilmente un aspetto edematoso dell'epitelio bronchiolare che porta, se non corretto, alla ostruzione del lume del bronchiolo che, in un bambino tanto piccolo, è molto ristretto.
 - INSUFFICIENZA CARDIACA legata in particolare all'interessamento polmonare e che quindi si estrinseca in un cuore polmonare.
 - INFEZIONE BATTERICA.

L'EFFETTO CITOPATICO DEL VIRUS:

questo virus presenta un effetto citopatico particolare, NON LIDE LA CELLULA MA PORTA ALLA FORMAZIONE DI UN SINCIZIO di PIÙ CELLULE CHE IN DEFINITIVA PORTA A FORTI LESIONI DEL TESSUTO. Questo particolare effetto si osserva molto chiaramente su un terreno di coltura.

A livello DIAGNOSTICO si ha a disposizione per questo ed altri virus simili, un sistema di riconoscimento detto SHELL VIALS:

- SI PREPARA UN TERRENO con una coltura cellulare.
- il terreno viene posto in un contenitore.
- si pone il campione prelevato dal paziente nel contenitore in contatto diretto con il terreno.
- Si preleva il terreno contaminato e lo si pone su un vetrino dopo circa 20 ore.

Giordano Perin; virologia speciale 1: i myxovirus

- si esegue un test di IMMUNOFLUORESCENZA rispetto alle proteine prodotte nella prima fase della infezione dalle cellule infettate dal virus.

I PICORNAVIRUS:

si tratta di un gruppo di virus detto PICO RNA virus, si tratta di microorganismi:

- con un genoma ad RNA monocatenario positivo.
- hanno dimensioni molto piccole.
- sono privi di pericapside.
- presentano struttura eicosaedrica.
- si replicano nel citosol della cellula.
- si liberano nell'ambiente per lisi della cellula stessa.

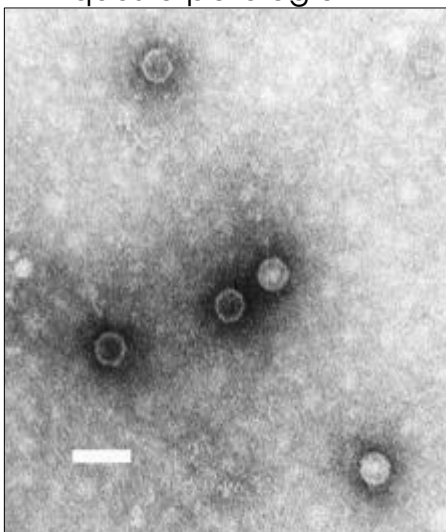
il meccanismo patogenetico è molto semplice: il virus replica e fa tradurre il suo RNA portando alla formazione di nuove particelle virali.

LA FAMIGLIA DEI PICORNAVIRUS è una famiglia relativamente composita, riconosciamo infatti:

- ENTEROVIRUS gruppo cui appartengono:
 - poliovirus.
 - coxsackie virus A 1-6.
 - coxsackie virus B 1-22.
 - echovirus.
 - enterovirus umani 68-71.
- RHINOVIRUS.
- ENTEROVIRUS 72: si tratta di un enterovirus particolare, è responsabile della epatite di tipo A.

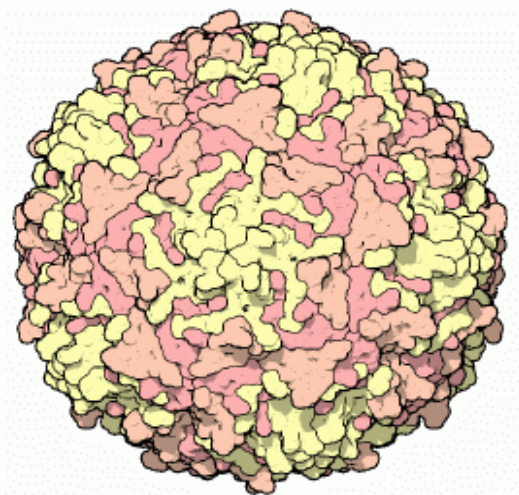
IL POLIOVIRUS:

La poliomelite è una malattia sostanzialmente quasi scomparsa nel mondo anche se persistono ancora delle sacche soprattutto in africa e in Asia; i progetti iniziali della associazione nazionale della sanità erano di debellare completamente tale virus entro il 2000, obiettivo chiaramente non raggiunto. Si tratta di una malattia a CIRCOLAZIONE OROFECAL e si acquisisce principalmente per ASSUNZIONE DI ACQUA E CIBI CONTAMINATI: ovviamente tanto più è evoluto il sistema di controllo delle acque e l'igiene in generale, tanto più basso è il rischio di contagio per questa patologia.



Micrografia TEM di poliovirus; a destra la struttura del virus.

immagine tratta da wikipedia
immagine tratta da wikipedia



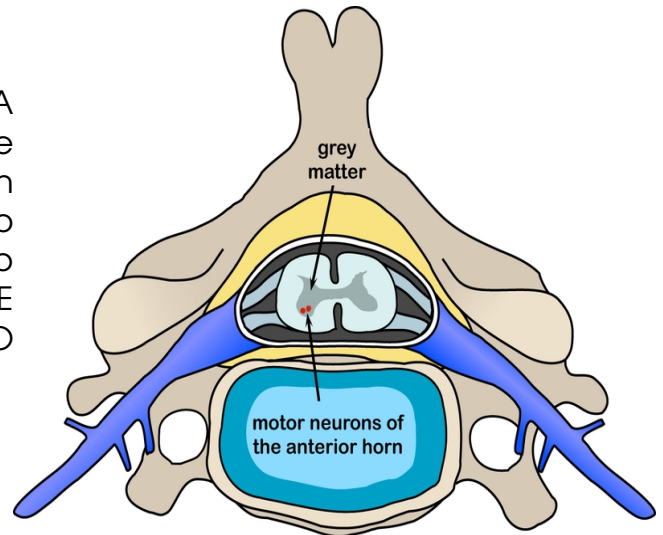
Tale patologia nella stragrande maggioranza dei casi si manifesta come una GASTROENTERITE e da quindi i tipici sintomi:

- nausea.
- vomito.
- diarrea.

la infezione, nella maggior parte dei casi si limita a questo in questo modo, ma in alcuni casi può anche peggiorare divenendo:

- SISTEMICA prima.
- NERVOSA poi.

in particolare il virus raggiunge LE CORNA ANTERIORI DEL MIDOLLO SPINALE dove provoca un danno grave che si traduce in un DEFICIT MOTORIO, da qui il virus, risalendo il midollo, raggiunge il sistema nervoso centrale dove si moltiplica e si insedia NELLE REGIONI DEL TRONCO ENCEFALICO portando alla morte del paziente.



I VACCINI disponibili per questa patologia sono due al momento:

- SALK basato sul virus morto, si tratta di un vaccino quindi che viene somministrato per via parenterale.
- SABIN vivo attenuato, si tratta di un virus che ha perso il TROPISMO PER IL SISTEMA NERVOSO.

fondamentalmente tale vaccino venne elaborato da Albert Sabin intorno al 1950: il ricercatore riuscì a selezionare una variante genetica del poliovirus, priva di neurotropismo; fondamentalmente il ricercatore:

- coltivò campioni virali in grande quantità.
- inoculò diversi ceppi in primati.

tutto questo fino ad ottenere un ceppo virale che desse semplicemente una GASTROENTERITE COMPLETAMENTE PRIVA DI COMPLICANZE NEUROLOGICHE.

La poliomelite venne debellata proprio grazie al contributo del vaccino SABIN; tale vaccino:

- ha costi molto contenuti, non è infatti necessario uccidere il virus.
- presenta posologia e metodo di somministrazione semplicissimi, viene infatti distribuito per via orale.

L'EFFETTO DEL VACCINO SABIN è quello di generare una gastroenterite per cui il bambino elimina una grande quantità di virus con le feci; l'effetto è quindi duplice:

- si vaccina il paziente che risulta immunizzato.
- si altera la popolazione del virus nell'ambiente: diminuiscono quindi le probabilità di assumere forme di poliovirus pericolose dal punto di vista del sistema nervoso, inoltre il continuo riemergere del virus nella sua forma attenuata rappresenta una forma di richiamo naturale che riduce notevolmente il rischio di infezione.

L'unico problema legato a questo tipo di vaccino è la possibilità che questo subisca processi di RETROMUTAZIONE che potrebbero far recuperare al virus stesso tropismo per il

sistema nervoso umano.

a livello storico possiamo dire che nel nostro paese il VACCINO SABIN non si utilizza più; questo è dovuto al fatto che:

- il vaccino SALK non è molto efficace in quanto non simula in modo reale una infezione virale, risulta quindi poco utile in situazioni epidemiche o pandemiche.
- IL VACCINO SABIN è molto efficace in caso di una situazione pandemica o a rischio, ma presenta, ovviamente, dei rischi commisurabili in termini di riacquisizione del tropismo per il sistema nervoso in un caso ogni due milioni di vaccini.
- Ad oggi la poliomelite a livello europeo è stata fondamentalmente debellata, di conseguenza l'utilizzo del vaccino SABIN comporta più rischi che benefici, e si utilizza quindi il vaccino SALK.

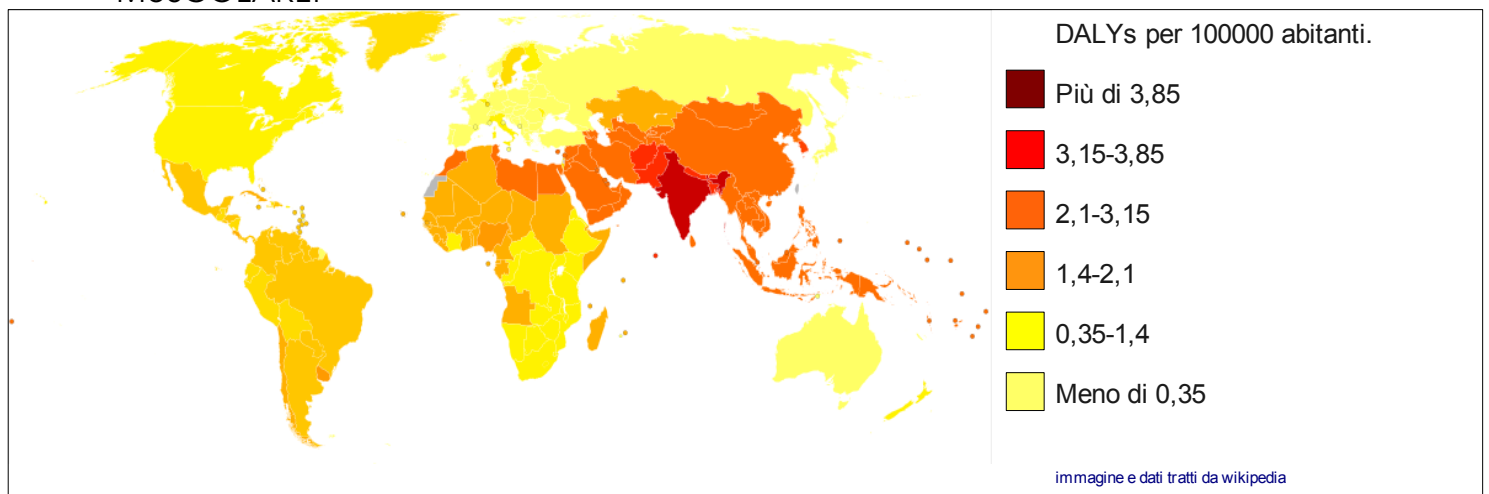
È importante sottolineare il fatto che per un certo periodo si somministravano entrambi i vaccini, sia SALK che SABIN di modo che in caso di retromutazione virale, il paziente fosse ugualmente protetto.

una delle possibili terapie per evitare che il paziente andasse incontro alla impossibilità di utilizzare le gambe, era quella di ANCHILOSARE L'ARTICOLAZIONE DEL GINOCCHIO di modo che questa fosse RIGIDA.

Il deficit NEUROLOGICO E MOTORIO generato da questo tipo di patologia presenta una variabilità notevole:

- per gravità.
- per le regioni interessate, questo dipende ovviamente da quali mielomeri sono interessati dalla infezione.

si osservano in questi pazienti riduzioni del volume e della massa muscolare dell'arto interessato dalla lesione, tuttavia tali riduzioni sono da imputarsi sempre e comunque ad un deficit di natura nervosa, non ad un deficit di natura MUSCOLARE.



ECHOVIRUS:

si tratta di una famiglia relativamente ristretta di virus, in particolare sono spesso causa di:

- faringiti
- malattie esantematiche
- meningite asettica: si tratta di una meningite NON PURULENTA con LIQUOR LIMPIDO.

ENTEROVIRUS UMANI:

anche in questo caso le patologie causate da tale famiglia di virus sono piuttosto lievi:

- infezioni respiratorie.
- congiuntiviti emorragiche.
- esantemi vescicolosi.
- meningo-encefaliti

fondamentalmente tali patologie non sono pericolose, e raramente vengono richiesti consulti di natura laboratoriale.

COXSACKIE VIRUS:

Per quanto riguarda questa famiglia di virus è necessario distinguere tra:

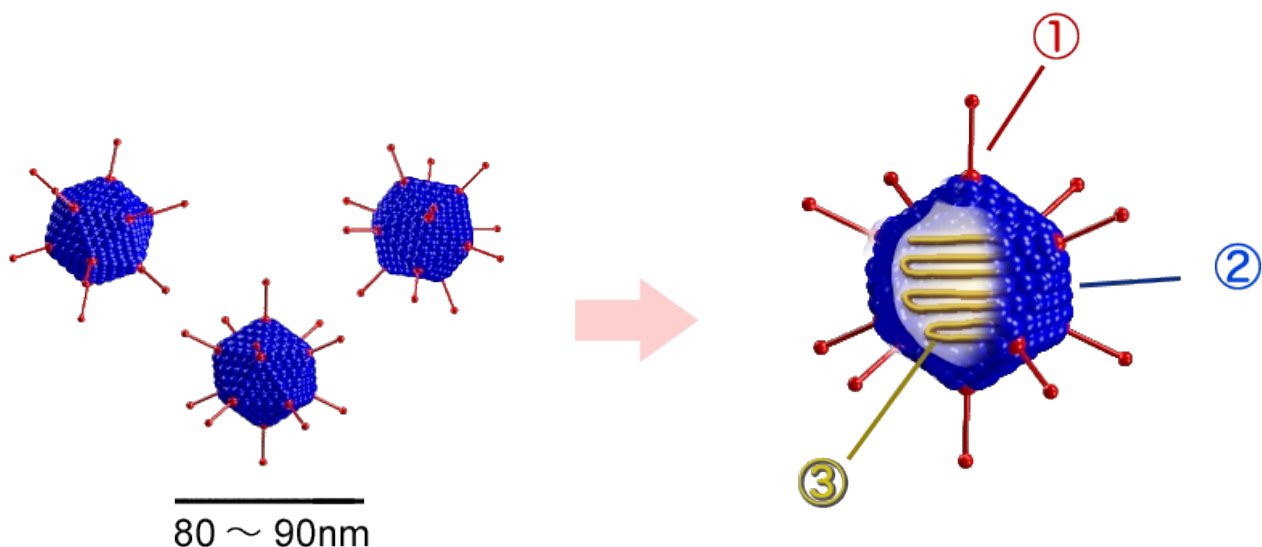
- COXSACKIE VIRUS A tali virus sono meno pericolosi dei coxsackie virus B, possono provocare:
 - ERPANGINA si tratta di una faringite vescicolare.
 - MANIFESTAZIONI ESANTEMATICHE in particolare associate alla sindrome MANI-PIEDI-BOCCA, una malattia esantematica infantile.
 - MENINGITE ASETTICA a liquor limpido.
- COXSACKIE VIRUS B tali virus possono divenire anche molto pericolosi; hanno un tropismo per le cellule MUSCOLARI, possono provocare in particolare:
 - malattia di BORNHOLM che causa fondamentalmente:
 - febbre.
 - cefalea.
 - mialgia in particolare in relazione a muscoli respiratori della gabbia toracica.
 - MIOCARDITI E PERICARDITI: tali virus sono molto pericolosi nel momento in cui viene ad essere interessato il muscolo cardiaco; fondamentalmente ricordiamo che:
 - una buona parte dei casi di cardiomiopatia dilatativa, almeno a livello di stima in quanto non sono presenti vere e proprie misurazioni, sembra sia causata, o comunque stimolata, da infezioni causate da questo virus, anche in pazienti giovani. Ricordiamo in ogni caso che UNA CARDIOMIOPATIA DILATATIVA può essere associata anche ad altri tipi di virus infettanti.
 - La pericardite è secondaria rispetto alla miocardite.



GLI ADENOVIRUS:

Si tratta di una famiglia di virus caratterizzata fondamentalmente da:

- CAPSIDE EICOSAEDRICO caratterizzato dalla presenza di due proteine:
 - esoni che costituiscono le facce dei 20 triangoli.
 - pentoni che di fatto vanno a costituire delle estroflessioni, dette SPIKES, fondamentali a garantire al virus il TROPISMO PER LE CELLULE UMANE.
- si tratta di un virus NUDO, privo cioè di pericapside.
- l'informazione genetica è in forma di DNA BICATENARIO che esegue le tipiche azioni infettive del virus.
- una volta codificate le componenti, queste vengono accumulate nel citoplasma formando grandi quantità di virus che si liberano per lisi della cellula ospite.



1 pentoni.
2 esoni.
3 genoma virale.

si tratta di virus estremamente diffusi e appartenenti a moltissime categorie differenti; gli adenovirus umani sono TIPIZZABILI e oggi sappiamo che:

- danno vita a diverse malattie.
- si insediano principalmente a livello delle ADENOIDI ma non solo.
- I possibili bersagli di questi virus sono tre:
 - apparato respiratorio dove i quadri sintomatologici possono essere molto differenti tra loro:
 - faringotonsilliti semplici; anche in questo caso si passa attraverso quadri a gravità differente caratterizzati da:
 - febbre in maniera praticamente costante.
 - placche bianche simili ad angina streptococcica.
 - tracheiti.

- polmonite atipica primaria¹: si tratta di una polmonite INTERSTIZIALE che sul piano sintomatologico si manifesta con una TOSSE NON PRODUTTIVA, cioè:

- secca.
- stizzosa.
- difficile da controllare.

I quadri patologici possono poi essere molto differenti.

- congiuntiva ed occhio: la manifestazione può essere molto diversa, da una SEMPLICE CONGIUNTIVITE con vari stadi di gravità fino al TRACOMA, patologia molto grave. Il tracoma può essere causato da:

- clamydie.
- micoplasmi.
- adenovirus.

il TRACOMA rende la palpebra MENO LISCIA e di conseguenza porta alla LESIONE DELLA SUPERFICIE CORNEALE che alla lunga può portare anche a cecità. Questo avviene soprattutto nei paesi poveri.

- tratto gastroenterico portando a gastroenteriti.

L'EFFETTO CITOPATICO DI QUESTO TIPO DI VIRUS:

si esegue una normale coltura in una cellule umane in vitro, molto spesso si utilizza la LINEA HEK (human embryonic kidney); l'effetto citopatico è abbastanza riconoscibile ed indicativo dal punto di vista clinico, le cellule sottoposte a questo tipo di stress:

- si staccano dalle cellule del campione.
- divengono tonde.
- si ha una notevole acidificazione del terreno.

normalmente si esegue una reazione di NEUTRALIZZAZIONE con ANTICORPI ANTI ADENOVIRUS; si utilizzano chiaramente in prima battuta ANTICORPI POLIVALENTI e si va via via selezionando sulla base della reattività quale sia il virus presente nel campione.



¹ Le cause PRIME DI QUESTO TIPO DI PATOLOGIE sono tuttavia differenti, in primis ricordiamo IL MYCOPLASMA PNEUMONIAE, altre cause possono essere CLAMIDIE e ALTRI CEPPI VIRALI. È importante distinguere tra le diverse cause soprattutto in relazione al trattamento che deve essere utilizzato.

POXVIRUS

I poxvirus sono una vasta famiglia, il componente più significativo è sicuramente il virus del VAIOLO noto come VARIOLA VERA; complessivamente tali virus presentano le seguenti caratteristiche;

- sono virus di grandi dimensioni e molto complessi: inizialmente si pensò addirittura che si trattasse di batteri; raggiungono i 400*200nm, al limite della visibilità con il microscopio ottico.
- Dotati di pericapside.
- Capside elicoidale anche se può variare tra i diversi virus.
- genoma a DNA bicatenario lineare.
- possiede numerosi enzimi: è capace di cominciare i processi di sintesi ancor prima di liberarsi del capside.

Tra i poxvirus ricordiamo sicuramente:

1. VIRUS DEL VAIOLO.
2. VIRUS VACCINICO utilizzato in origine per produrre il vaccino.
3. CAWPOXVIRUS virus tipico delle mucche ed oggi utilizzato in forma di vaccino nell'uomo.
4. VIRUS DEL MOLLUSCO CONTAGIOSO.
5. VIRUS DELLA DERMATITE PUSTOLOSА.
6. MONKEYPOXVIRUS: tale virus è capace, anche se molto raramente, di generare fenomeni simili al vaiolo.

IL VAIOLO:

si tratta di una malattia molto contagiosa, si trasmette infatti per VIA AEREA:

- comincia come una fase respiratoria durante la quale il virus si insedia nel polmone dove si moltiplica.
- si porta ai linfonodi limitrofi.
- si porta al CIRCOLO dove da vita ad UNA VIREMIA PRIMARIA TRANSITORIA.
- viene catturato da MILZA E LA FEGATO dove da vita a FOCOLAI DI NECROSI.
- si riporta nel SANGUE DOVE GENERA UNA VIREMIA SECONDARIA.
- il virus quindi si diffonde in tutto il corpo; a livello CUTANEO APPARE UN ESANTEMA TIPICO:

- papula.
- vescicola.
- pustola.
- crosta.

si tratta di un ESANTEMA SINCRONO cioè un esantema nel quale tutti gli elementi compaiono contemporaneamente e sono al medesimo stadio.

la mortalità dei soggetti affetti raggiunge il 50%, si trattava quindi di una malattia molto grave.

IL VACCINO DEL VAIOLO:

Il vaccino del vaiolo, il primo vaccino scoperto e utilizzato, nasce da una osservazione di Jenner; il ricercatore osservò che gli allevatori di mucche:

- si ammalavano di un vaiolo localizzato a livello delle mani e che non aveva

conseguenze.

- non subivano effetti da infezione da parte del virus del vaiolo normale.

Inizialmente il ricercatore decise di utilizzare tale virus, detto virus vaccino, che con il tempo è mutato e ai giorni nostri risulta non utilizzabile; ad oggi si utilizza il cowpoxvirus. La vaccinazione tuttavia, quando veniva eseguita:

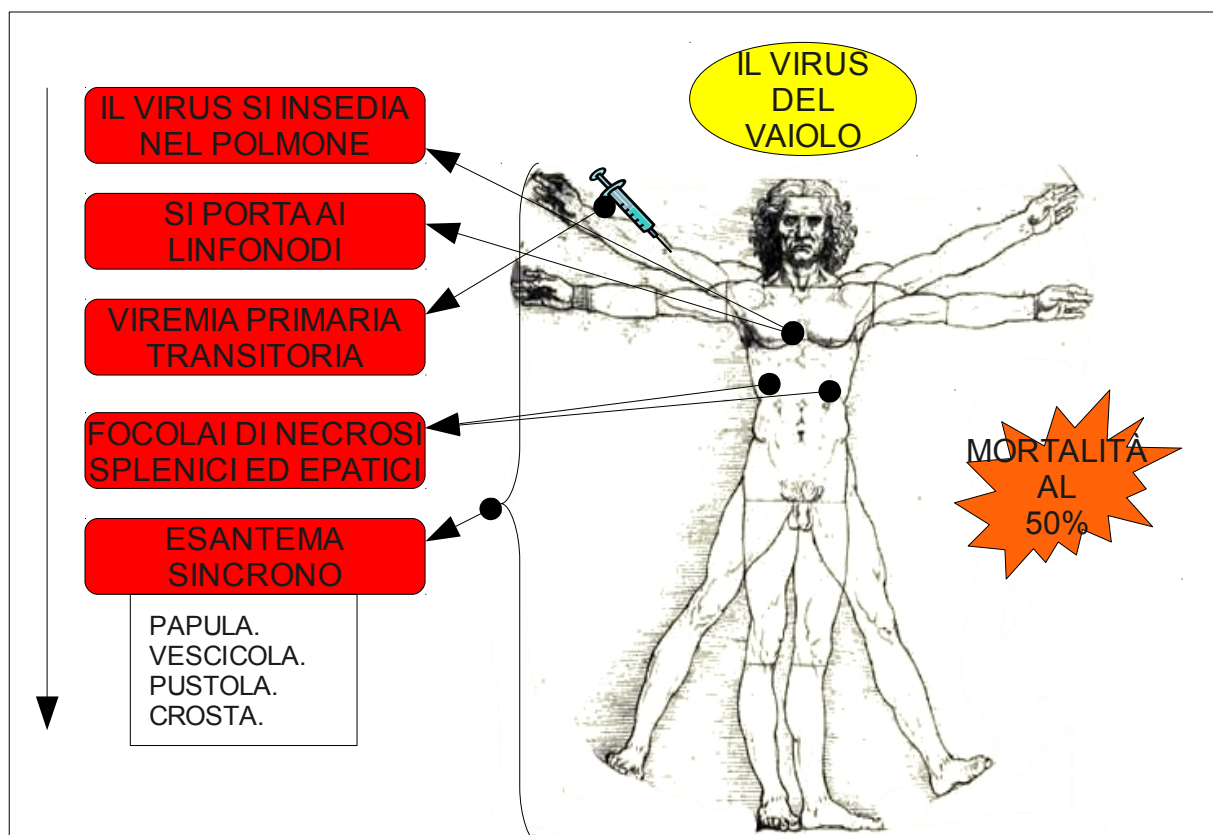
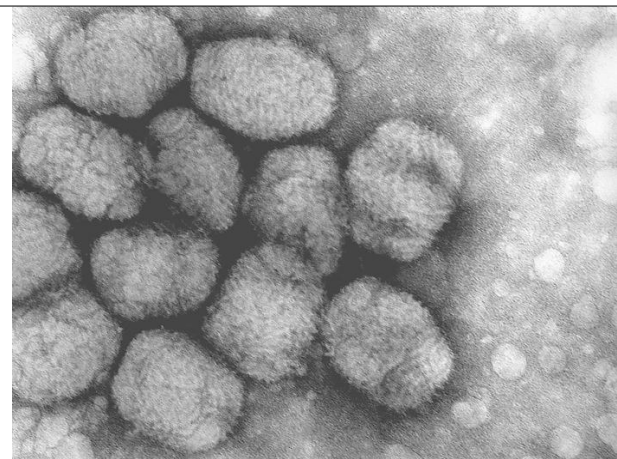
- aveva una discreta mortalità.
- aveva una grande quantità di effetti collaterali.

L'ULTIMO CASO registrato risale al 1977; da allora generalmente non si è più parlato di VAIOLO se non per ragioni legate al bioterrorismo.



Esantema sincrono del vaiolo, a destra immagine del virus al microscopio elettronico.

immagine tratta da wikipedia
immagine tratta da wikipedia



IL MOLLUSCO CONTAGIOSO:

Giordano Perin; virologia speciale 4: i poxvirus

si tratta di un virus di questa famiglia che viene veicolato da un mollusco, fondamentalmente il virus genera delle lesioni cutanee papulose della pelle; si tratta di una patologia contagiosa, ma assolutamente non pericolosa. La terapia è chirurgica e prevede la eliminazione del vettore.



Lesione da mollusco contagioso.

[immagine tratta da wikipedia](#)

I CORONAVIRUS

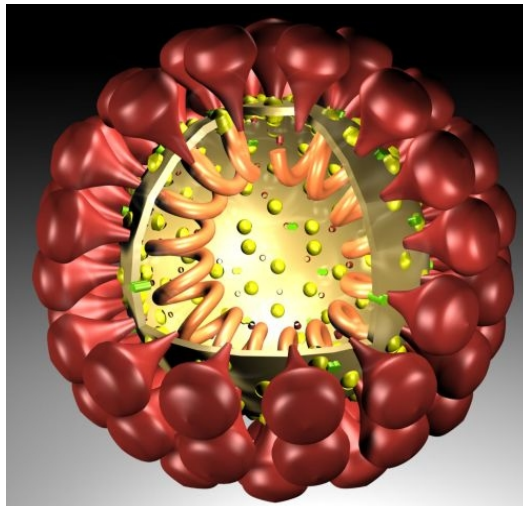
Si tratta di virus dalla morfologia così descrivibile:

- presentano simmetria elicoidale.
- Il loro genoma è costituito di un filamento di RNA monocatenario a polarità positiva.
- Risulta munito di pericapside che alla osservazione si presenta come una corona.

FONDAMENTALMENTE sono due i virus di questa categoria capaci di generare patologie umane di piccola entità:

- human coronavirus 229E.
- human coronavirus OC43

tali virus risultano coinvolti nel normale raffreddore.



LA SARS:

Negli ultimi anni è comparso un nuovo tipo di coronavirus, si tratta del virus SARS-CoV responsabile di una PATOLOGIA NOTA COME SARS o severe acute respiratory syndrome; si tratta di una sindrome respiratoria molto grave che nel periodo tra il 2002 e il 2003 divenne in alcuni paesi del mondo EPIDEMICA, in particolare:

- colpì 8423 individui.
- fece 916 morti.

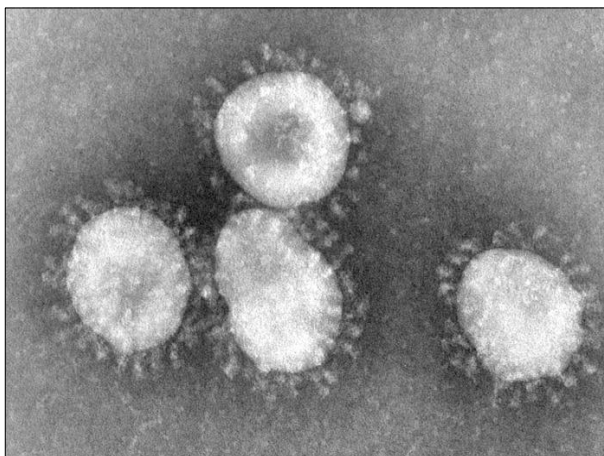
Il fenomeno trovò la sua origine in oriente, ad Hong Kong: si tratta infatti di un virus animale che ha acquisito un tropismo per l'uomo. Complessivamente tale epidemia interessò 31 paesi nel mondo e il fenomeno pandemico venne evitato unicamente grazie ALLA ATTIVITÀ DI EPIDEMIOLOGI. Il primo caso segnalato fu scoperto in VIETNAM e l'epidemiologo che lo segnalò morì affetto proprio da tale patologia.

VIRULENZA:

Il virus della SARS presenta diversa DIFFUSIBILITÀ E PERICOLOSITÀ in relazione ai DIVERSI PAZIENTI CHE INCONTRA: IL RAPPORTO VIRUS-OSPITE fa CAMBIARE COMPLETAMENTE REGISTRO AL VIRUS tanto che alcuni soggetti subiscono gravi

Giordano Perin; virologia speciale 5: i coronavirus

conseguenze e divengono molto infettivi, mentre altri no.



SARS coronavirus al
microscopio elettronico
scansione.

[immagine tratta da wikipedia](#)

IL RABDOVIRUS

LA RABBIA È UNA MALATTIA A PATOGENESI VIRALE, si tratta di un virus dalla morfologia a proiettile e caratterizzato in linea generale da:

- simmetria elicoidale.
- RNA monocatenario a polarità negativa.
- Pericapside.
- È dotato di UNA RNA POLIMERASI RNA DIPENDENTE direttamente nel capside, essenziale per i processi di replicazione.
- replica in sede CITOPLOSMATICA senza interessare il nucleo.

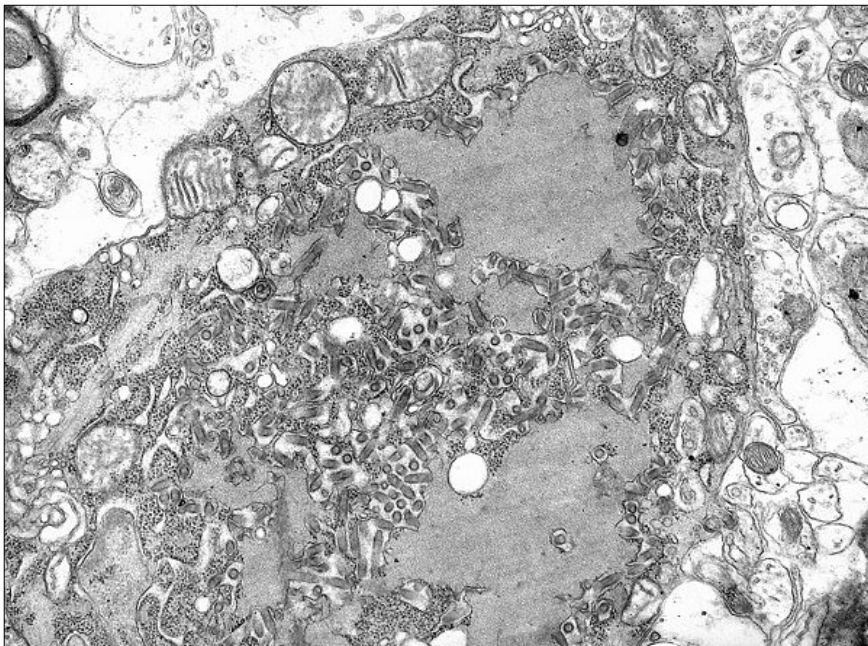


Immagine al microscopio elettronico del virus della rabbia mentre attacca delle cellule di mammifero.

immagine tratta da wikipedia

LA RABBIA:

si tratta di una malattia che si acquisisce solo e unicamente tramite il morso di un animale infetto, non ci sono altre forme di contagio. Il virus deve ESSERE INOCULATO ALL'INTERNO DI UNA STRUTTURA MUSCOLARE e la infezione procede in questo modo:

- IL VIRUS SI REPLICA A LIVELLO DEL MUSCOLO dove è stato iniettato.
- RISALE LE FIBRE NERVOSE FINO AL MIDOLLO.
- RISALE FINO ALL'ENCEFALO.
- a livello encefalico si MOLTIPLICA FINO A DARE UNA ENCEFALITE.
- A QUESTO PUNTO, essendosi replicato, si porta alla periferia attraverso le strutture nervose e:
 - raggiunge l'occhio.
 - raggiunge le ghiandole salivari.

LA MALATTIA:

la rabbia è una malattia oramai rarissima nel nostro paese e in tutto il mondo si contano circa 1000 morti all'anno per questa patologia. Per quanto riguarda la

manifestazione della patologia riconosciamo:

- UNA FASE PRODRAMICA caratterizzata da:

- febbre.
- Cefalea.
- Mialgia.
- Nausea.
- Vomito.

Si tratta della fase durante la quale il virus viaggia verso il sistema nervoso.

- FASE ENCEFALICA che si caratterizza invece con i seguenti sintomi:

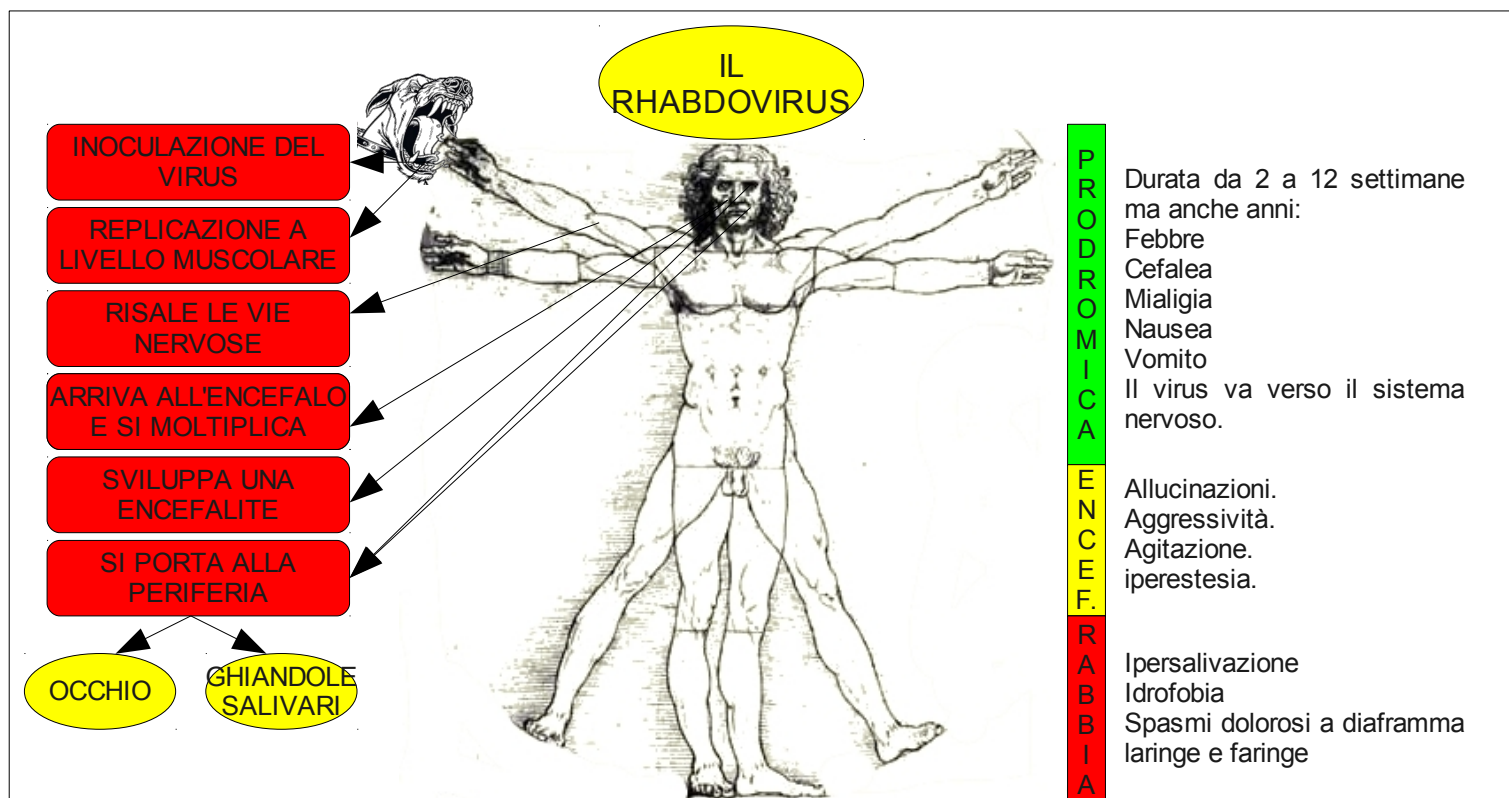
- agitazione.
- allucinazioni.
- aggressività.
- iperestasia: si percepisce qualsiasi stimolo in forma amplificata al punto che questo diviene difficilmente sopportabile se non intollerabile.

A livello sintomatologico si manifesta come qualsiasi altra forma di encefalite. È importante sottolineare per quanto riguarda le forme animali che la ENCEFALITE INIBISCE ANCHE I FENOMENI DI PAURA e di conseguenza l'animale assume un atteggiamento passivo alla presenza dell'uomo; tale atteggiamento cessa improvvisamente nel momento in cui ci si avvicini all'animale che diviene molto aggressivo.

- RABBIA vera e propria che si manifesta come:

- ipersalivazione.
- Idrofobia.
- spasmi dolorosi soprattutto a livello di:
 - diaframma.
 - faringe.
 - laringe.
- Porta infine a coma e morte del paziente.

La guarigione in assenza di terapia è un evento RARISSIMO e che si verifica unicamente nel caso in cui LA ATTIVITÀ MACROFAGICA SIA SUFFICIENTEMENTE ELEVATA DA ELIMINARE IL VIRUS PRIMA DELL'INIZIO DELLA FASE DI MOLTIPLICAZIONE.



TERAPIA:

Fondamentalmente per casi di pazienti morsi da animali selvatici si eseguono processi di profilassi di questo tipo:

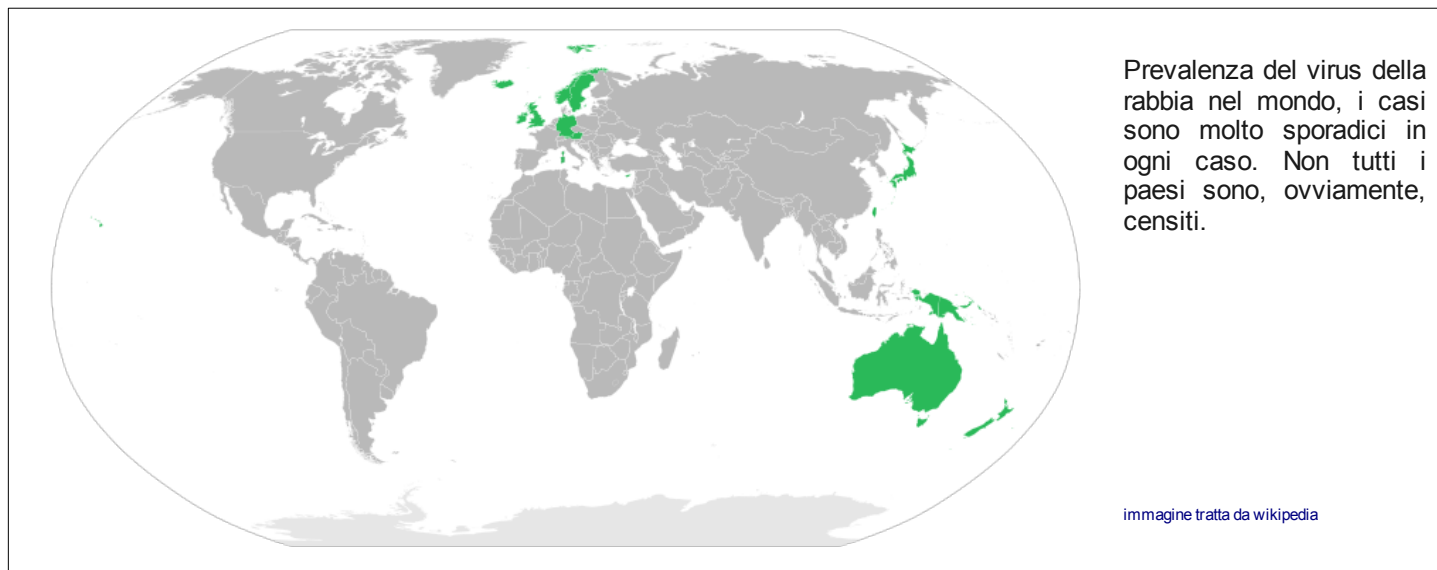
- **PULIZIA DELLA FERITA** anzitutto in modo chirurgico.
- **ANTIBIOTICI LOCALI** anche se non sempre somministrati, possono essere utili in forma profilattica.
- **IMMUNIZZAZIONE PASSIVA** cioè inoculazione di anticorpi pronto uso o RIG cioè rabies immune globulin; tale inoculazione si esegue:
 - in parte intorno al morso.
 - in parte nel morso.
 - sul muscolo gluteo.

gli anticorpi sono derivati principalmente dal cavallo, anticorpi umani sono chiaramente più efficaci ma praticamente impossibili da reperire.

- **IMMUNIZZAZIONE ATTIVA** cioè **VACCINAZIONE** che stimola la produzione di anticorpi. Il vaccino attualmente utilizzato è un HDCV o human diploid cell vaccine che viene somministrato in sette dosi:
 - subito.
 - al giorno 3.
 - al giorno 7.
 - al giorno 14.
 - al giorno 21.
 - al giorno 28.
 - infine al giorno 90.

si tratta di un vaccino con forti controindicazioni chiaramente, ma se

coadiuvato con una immunizzazione passiva, è generalmente efficace.
le due terapie attiva e passiva spesso non sono alternative ma complementari.



INTERVENTO CLINICO:

secondo le linee guida attuali l'intervento clinico si esegue come segue:

- è possibile che l'animale abbia la rabbia?
 - in caso negativo non si interviene.
 - in caso positivo si procede.
- è nota o sospetta la presenza di rabbia nella zona?
 - in caso negativo non si interviene.
 - in caso positivo si procede.
- è stato catturato l'animale?
 - in caso negativo si eseguono immediatamente IMMUNIZZAZIONE ATTIVA E PASSIVA.
 - in caso positivo si prosegue con l'analisi.
- nel caso in cui si tratti di un cane o un gatto domestico, l'animale viene mantenuto in osservazione per 10 giorni¹, se si ammala e si dimostra che sia affetto da rabbia, si esegue l'intervento di immunizzazione, in caso negativo non si fa nulla.

Il tempo a disposizione per la esecuzione delle analisi è strettamente legato alla posizione del morso: maggiormente periferica è la lesione, maggiore è il tempo a disposizione.

Il problema per quanto riguarda la diffusione di questo virus non sono oggi i cani randagi, ormai non più presenti nei nostri territori, quanto piuttosto LE VOLPI SELVATICHE che, nonostante le lunghe e costose campagne antirabica, ad oggi sono il veicolo principale della malattia.

¹ un tempo si uccideva l'animale e si cercavano segni caratteristici della encefalite.

L'HIV

Oggi non si parla più di questo virus con la frequenza di un tempo, questo è dovuto al fatto che l'aspetto pandemico e veramente pericoloso di tale patogeno si estrinseca oggi unicamente nei paesi del terzo mondo. Si tratta di:

- un retrovirus.
- Appartiene alla famiglia dei LENTIVIRUS.
- è un virus ad RNA MONOCATENARIO A POLARITÀ POSITIVA.
- NON È TRASFORMANTE: si tratta di uno dei pochi retrovirus che non trasforma le cellule in senso neoplastico.
- È DOTATO DI PERICAPSIDE.

strutturalmente tale virus è insolito:

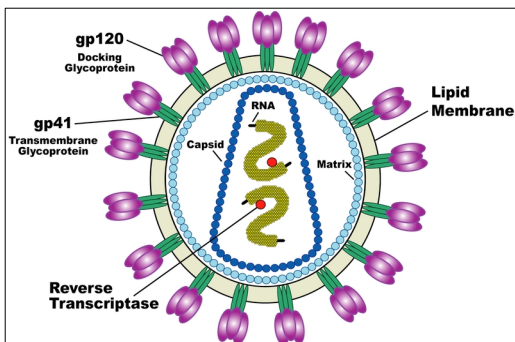
- presenta due filamenti di RNA MONOCATENARIO cioè chiaramente distinti tra loro e non complementari.
- essendo un retrovirus, necessita chiaramente di un FATTORE DI RETROTRASCRIZIONE: l'enzima necessario è una DNA POLIMERASI RNA DIPENDENTE che si colloca nel capside del virus stesso e che penetra con lui nella cellula ospite.
- Presenta due molecole essenziali per i meccanismi di adesione alle cellule ospiti;

- GP120.

- GP41.

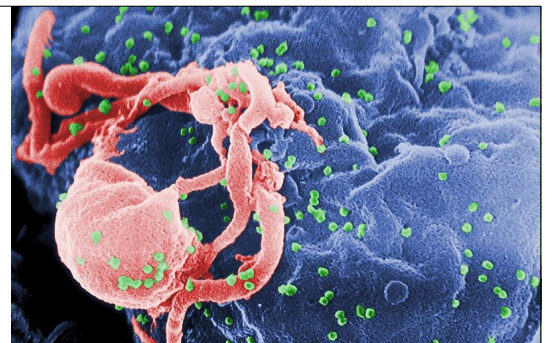
Distinte tra loro per il diverso peso molecolare rispettivamente di 120 e 40kD.

- la replicazione virale avviene fondamentalmente in questo modo:
 - le molecole di adesione si legano generalmente ad un LINFOCITA in particolare al recettore CD4.
 - Il virus entra nella cellula.
 - il materiale genico si libera per scapsidizzazione.
 - l'RNA viene RETROTRASCritto.
 - il DNA NEOPRODOTTO SI INTEGRA NEL GENOMA DELLA CELLULA OSPITE dove può rimanere silente anche per lunghi periodi.
 - IL VIRUS PUÒ RIEMERGERE E:
 - indirizzare le proteine GP120 e GP41 sulla membrana della cellula.
 - Uscire per gemmazione dalla cellula ospite formando il pericapside.



A sinistra una immagine schematica della struttura del virus, a destra un'immagine al microscopio elettronico del virus (in verde) mentre attacca una cellula linfocitica in vitro.

immagine tratta da wikipedia
immagine tratta da wikipedia



L'ORGANIZZAZIONE DEL GENOMA VIRALE è molto complessa ma si organizza

fondamentalmente in due grandi gruppi di proteine:

PROTEINE DI GRANDI DIMENSIONI come:

- GAG.
- POL.
- EMV.

essenziali per la struttura stessa del virus; è importante sottolineare il fatto che le sequenze GAG E POL vengono tradotte insieme a formare una sola grande proteina che post traduzionalmente viene recisa formando singole proteine a funzione differente come:

- p55.
- P32.
- P66.

Che possono divenire soggetto di altre proteasi o agire in quanto tali. La scoperta di questo fattore fu fondamentale: tutti I FARMACI DI ULTIMA GENERAZIONE contro l'HIV SONO PROPRIO DEGLI INIBITORI DELLE PROTEASI CHE FORMANO TALI MOLECOLE essenziali alla struttura del virus, a partire dal tradotto iniziale.

PROTEINE DI PICCOLE DIMENSIONI come:

- REV.
- TAT: uno degli approcci possibili sarebbe quello di creare un vaccino sfruttando questa molecola che:
 - da un lato è strutturalmente stabile non subisce fenomeni di mutazione estremi come altre proteine.
 - Dall'altro è logisticamente nascosta e viene individuata dal sistema immunitario come antigene unicamente in caso di infezioni conclamate.
- VPR.

si tratta di geni del tipo one gene-one protein, di piccole dimensioni.

L'EFFETTO CITOPATICO DEL VIRUS:

Questo virus è capace di uccidere le cellule umane tramite quattro metodi diversi fra loro:

- moltiplicandosi nella cellula: si moltiplica all'interno della cellula e con la lisi viene liberata una enorme quantità di virus nell'ambiente.
- comparsa di molecole virali sulla superficie della cellule infetta: avviene tipicamente per virus con pericapside, tali proteine vengono riconosciute come non self e la cellula viene attaccata dal sistema immunitario.
- Liberazione di proteine solubili: vengono liberate delle forme solubili di proteine di associazione virali come il GP120, che si associano al CD4 di cellule linfocitarie che vengono a questo punto riconosciute come NON SELF e attaccate.
- Formazione di sincizi: una cellula non infettata dal virus, che presenti il recettore CD4, può riconoscere il ligando GP120 esposto sulla membrana di una cellula INFETTA e ASSOCIARSI AD ESSA, a questo punto:
 - le due cellule si associano.
 - la relazione si fa sempre più stretta.
 - le membrane entrano in contatto tra loro.
 - si formano dei SINCIZI PLURICELLULARI MULTINUCLEATI.

Sembra che tale processo sia dovuto alla presenza di una proteina FUSOGENA che stimola la fusione tra le due cellule, forse la medesima che stimola la associazione del virus alla cellula ospite¹.

le cellule colpite da questo tipo di virus sono numerose, in particolare:

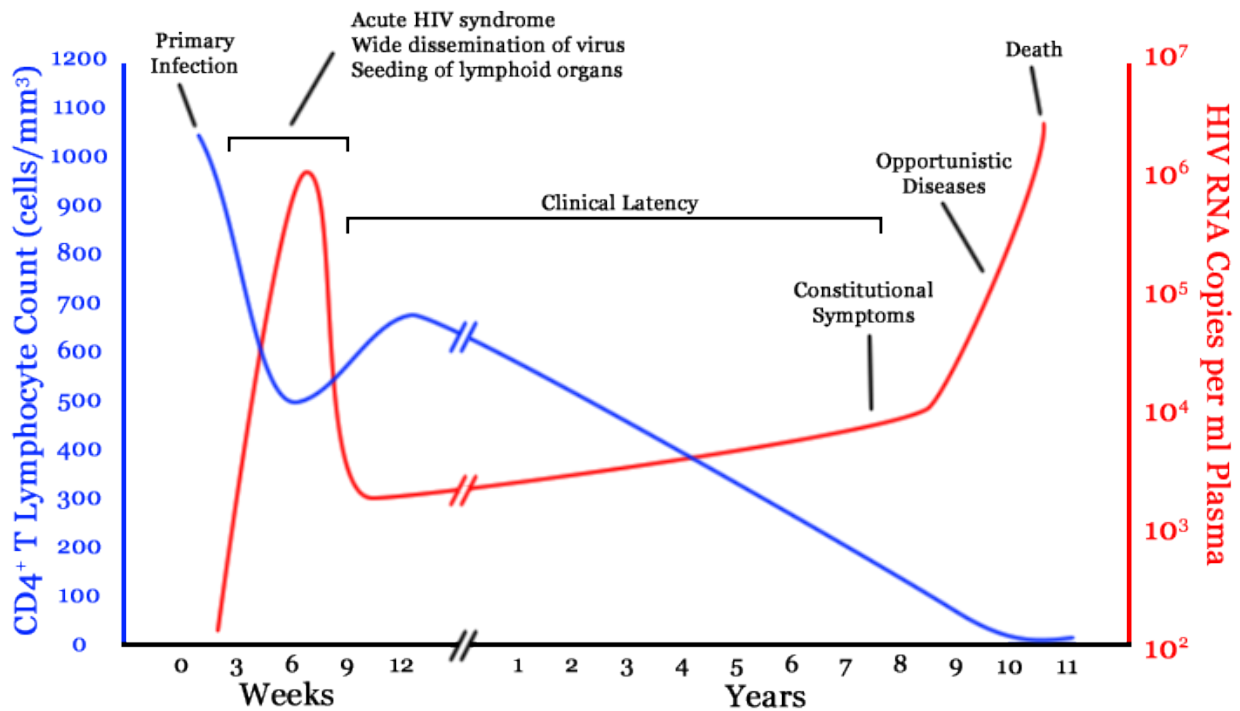
- cellule T che sono sicuramente le più colpite.
- cellule cromaffini.
- cellule gliali encefaliche: tale tropismo potrebbe spiegare la pazzia tipica degli ultimi stadi della malattia.
- cellule di langerhans della cute.

L'EVOLUZIONE DELLA MALATTIA:

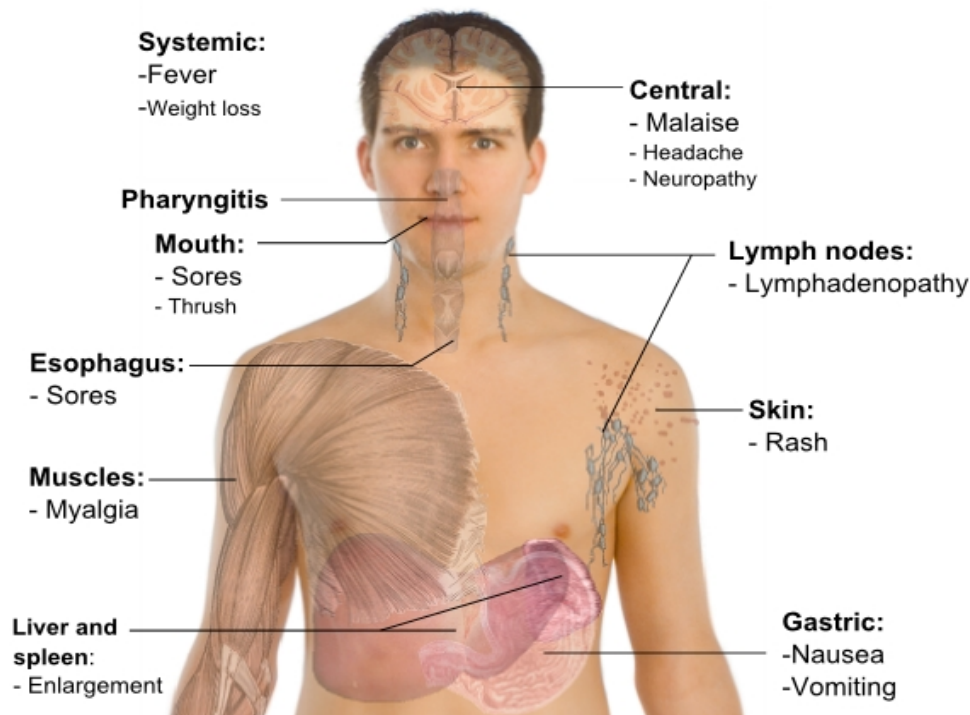
si tratta di una malattia ad evoluzione relativamente lenta.

- SI CONTRAE IL VIRUS per via parenterale, le vie più comuni sono:
 - per iniezione e trasfusione: si tratta di un caso rarissimo oggi nei paesi sviluppati, sono note delle percentuali minime di rischio in ogni caso.
 - per rapporto sessuale:
 - inizialmente la malattia si sviluppò nelle comunità omosessuali di S.Francisco e di New York.
 - Oggi i casi di maggiore contagio si riscontrano nei rapporti eterosessuali non protetti tipici dei paesi del terzo mondo.
 - uso promiscuo di aghi soprattutto per quanto riguarda i drug abuser dipendenti da eroina per cui lo scambio della siringa è quasi un rituale.
 - derivati ematici per via orale: per esempio fattori della coagulazione che, soprattutto un tempo, ma meno oggi, devono essere purificati dal sangue. Oggi, con le tecniche di ricombinazione, tale via di infezione è decisamente in calo.
- LAS o LYMPHO ADENOPATIC SYNDROME, si tratta di una linfadenopatia massiva diffusa che si caratterizza anche per il fatto che nel sangue troviamo la PROTEINA P24, indice di grande attività virale. A seguito compaiono i primi anticorpi anti HIV E LA RISPOSTA IMMUNITARIA SI SCATENNA portando ad un calo delle concentrazioni della proteina.
- ARC o AIDS-RELATED COMPLEX; si definisce malato di AIDS un paziente affetto da HIV che presenti una prima infezione opportunistica, ma prima che questo avvenga osserviamo molto spesso sintomi di questo tenore:
 - febbre, diarrea e dimagrimento privi di ragione apparente.
 - diminuzione dei livelli ematici di linfociti T4.
 - anemia, leucopenia, ipergammaglobulinemia.
 - diminuita o assente risposta immunitaria.
- AIDS CONCLAMATO caratterizzato da:
 - INFEZIONI OPPORTUNISTICHE
 - TUMORI OPPORTUNISTICI in particolare ricordiamo:
 - sarcoma di kaposi proliferazione vascolare multicentrica che interessa le mucose e la cute.
 - linfomi del SNC.

¹ La sessa azione viene svolta anche dal virus respiratorio sinciziale.



Main symptoms of Acute HIV infection



LE INFEZIONI OPPORTUNISTICHE:

con la caduta delle difese immunitarie assistiamo in breve tempo all'insorgenza di malattie opportunistiche, in particolare definiamo opportunistiche tutte quelle infezioni che:

- compaiono nell'individuo immunodepresso e non nel paziente normale.

- colpiscono in maniera più aggressiva pazienti immunodepressi.

Con il procedere del tempo e del calo della risposta immunitaria la situazione va peggiorando e si possono riscontrare:

- TBC.
- PCP o polmonite da pneumocystis jirovecii.
- NTX o neurotoxoplasmosi: la toxoplasmosi è una malattia non pericolosa normalmente, in questi pazienti può addirittura aggredire il sistema nervoso.
- CANDIDOSI ESOFAGEA
- TBC EXTRAPOLMONARE.
- KAPOSÌ PNEUMOCISTIS CARINII: si tratta di una infezione batterica praticamente inesistente in pazienti sani.
- CITOMEGALOVIRUS che nei pazienti normali è assolutamente non infettivo.
- CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS: si tratta di un fungo, simile alla candida, che in pazienti immunodepressi da meningiti pericolosissime; si trova nello sterco degli uccelli.

Fondamentalmente qualsiasi tipo di patogeno può divenire per questi pazienti pericolosissimo.

LA DIAGNOSI DI INFEZIONE DA HIV:

è necessario eseguire due tipi di procedure distinte nella pratica di laboratorio:

- screening su alti numeri legati a procedure di profilassi soprattutto per sacche di sangue; si esegue in questo modo:
 - metodi immunoenzimatici anzitutto: si tratta di un sistema ad alta sensibilità, ci si protegge dal rischio di ottenere falsi negativi.
 - conferma con western blotting: per tutti i casi positivi, che sono relativamente pochi a questo punto, si esegue un WESTERN BLOT DI CONTROLLO che consente di eliminare il FALSI POSITIVI vista la sua elevata specificità.

questo tipo di test non dà un risultato utile per neonati: il bambino figlio di una madre malata di AIDS presenta anticorpi in ogni caso in quanto questi passano liberamente attraverso la placenta, ma il virus si trasmette unicamente in un caso su cinque fortunatamente, il test non ha quindi nessun significato pratico.

- è possibile inoltre dover analizzare un campione direttamente prelevato da un paziente e si eseguono in questi casi:
 - una ricerca del virus tramite PCR QUANTITATIVA: questo si esegue SOPRATTUTTO IN RELAZIONE AI MALATI TERMINALI, si utilizza soprattutto per determinare se la terapia in uso sia valida o meno.
 - Il rapporto CD4/CD8 linfociti utile a livello diagnostico.

L'effetto di questo virus è devastante rispetto soprattutto alla aspettativa di vita; possiamo prendere come esempio il KENYA:

- senza AIDS la aspettativa di vita di un Keniano sarebbe di 69 anni.
- tenendo conto dell'AIDS, tale aspettativa si riduce drasticamente fino a 39,8 anni.

Essendo inoltre una malattia a trasmissione SESSUALE finisce per colpire i ceti maggiormente produttivi della popolazione.

LA TERAPIA:

come sappiamo per questo tipo di patologia non esistono cure, tuttavia la TERAPIA OGGI PIÙ UTILIZZATA interessa GLI INIBITORI DELLE PROTEASI come si accennava in precedenza, fondamentalmente tali farmaci trasformano una malattia mortale in una MALATTIA CRONICA:

- si vive con la patologia.
- non esistono più, grazie soprattutto a profilassi e controlli, meningiti da criptococco per esempio, ma questo vale anche per moltissime altre patologie.

inoltre i nuovi farmaci sono molto efficaci e più facili da utilizzare a livello posologico.

È importante ricordare che il virus ha capacità di mutazione notevolissime e che proprio per questo risulta molto difficile produrre un vaccino valido; lo stesso concetto si applica agli inibitori delle proteasi, la ricerca deve infatti continuamente:

- creare farmaci capaci di dare meno effetti collaterali possibili.
- creare farmaci capaci di insensibili alle nuove mutazioni virali.

AIDS INFANTILE:

Per quanto riguarda il contagio madre-feto, come abbiamo accennato, la malattia si sviluppa effettivamente unicamente in un caso ogni cinque nati. A livello terapeutico o preventivo bisogna tener presenti due linee d'azione:

- preparto periodo durante il quale si devono utilizzare farmaci che inibiscono la espressione virale.
- Parto che va eseguito in forma di parto cesareo.
- Postparto in particolare in relazione all'allattamento, non è possibile infatti utilizzare il latte materno. Questo è molto difficile soprattutto nei paesi del terzo mondo dove da un lato il costo del latte in polvere è elevatissimo, dall'altro l'acqua necessaria a produrlo è difficilmente reperibile.

VIRUS ERPETICI:

Si tratta di virus:

- a simmetria eicosaedrica.
- con DNA bicatenario di dimensioni variabili da 80 a 145Kb.
- possiedono pericapside.
- si replicano e assemblano direttamente nel nucleo.
- presentano un effetto quasi sempre litico sulle cellule infettate.
- sono virus caratterizzati da una elevata latenza: questo vale per tutti gli erpetici.

gli herpesvirus sono numerosi e possono essere suddivisi possiamo in tre grandi gruppi:

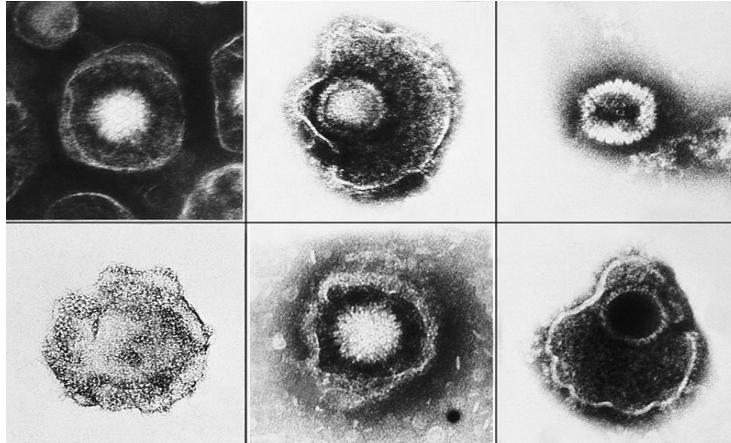
- herpesvirus ALFA dove si collocano:
 - HSV1.
 - HSV2.
 - VZV.

QUESTI VIRUS SI POSSONO COLTIVARE IN VITRO FACILMENTE e all'esame colturale, per la loro natura, provocano un effetto citopatico:

- evidente.
- rapido.

sono tutti virus dotati DI NEUROTROPISMO: questo è fondamentale rispetto alla capacità di questi virus di dare fenomeni di latenza in quanto si innestano in gangli nervosi.

- HERPESVIRUS BETA: a questa classe in particolare appartiene il CLV O CITOMEGALOVIRUS, si tratta di un virus che:
 - si moltiplica lentamente in vitro.
 - da CITOMEGALIA dal punto di vista citopatico e non lisi cellulare, fenomeno difficilmente osservabile.
 - come ogni altro herpes da forme di latenza instaurandosi:
 - nelle ghiandole secretorie.
 - nei tubuli renali.
 - nelle ghiandole linforeticolari.può quindi essere eliminato con urine o con saliva.
- HERPESVIRUS GAMMA in particolare ricordiamo il VIRUS DI EPSTEIN BARR, tale virus:
 - è difficilmente coltivabile in quanto si riproduce unicamente in cellule linfoblastoidi: non viene coltivato in laboratorio in quanto tale procedura richiederebbe mesi.
 - da naturalmente fenomeni di latenza che si sviluppa nel tessuto linfoide, nei linfociti B soprattutto.



HERPES VIRUS DI TIPO ALFA:

HERPES SIMPLEX DI TIPO 1:

COLPISCE L'UOMO PROVOCANDO GENERALMENTE DELLE GENGIVOSTOMATITI. si tratta di una patologia caratterizzata da lesione vescicolare che si estrinseca tramite vescicole che:

- sono ricche di liquido:
 - relativamente limpido.
 - ricco di particelle virali.
- la vescicola scoppia e la lesione cicatrizza.

tale virus è noto fondamentalmente in quanto responsabile del tipico herpes labiale, si tratta di una manifestazione NECROTICA legata alla formazione di una piccola ulcera a livello del labbro superiore o del labbro inferiore.

tale virus in particolare in seguito alla infezione:

- si innesta nel ganglio del gasser.
- permane in forma latente in esso e non emerge in quanto le difese immunitarie sono in grado di bloccarlo.
- può emergere a seguito di:
 - infezioni virali di altra natura.
 - stress psicologici.
 - stress climatici relativi a freddo e caldo.
 - mestruazioni.



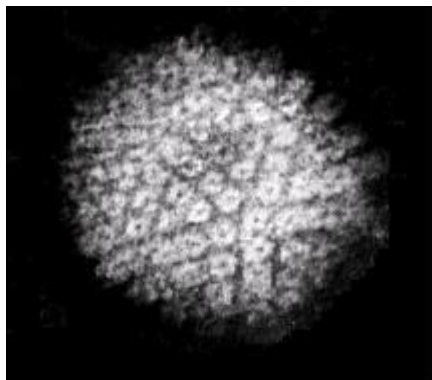
La riemersione è legata generalmente ad una immunodepressione anche MINIMA e assolutamente non pericolosa dal punto di vista clinico.

LA VIRULENZA dell'HERPES:

questo virus può divenire pericoloso soprattutto:

- DURANTE LA GRAVIDANZA in quanto può oltrepassare la placenta e colpire il bambino generando danni NEURALI anche MOLTO GRAVI.

- IN CASO DI INFEZIONE DELLA CONGIUNTIVA: IL VIRUS, dal ganglio di gasser, può prendere la via della branca oftalmica del trigemino e generare delle CORNEATITI VIRALI MOLTO GRAVI LA CUI CONSEGUENZA È SPESSO UNA OPACIZZAZIONE DELLA CORNEA.



Herpes virus simplex al microscopio elettronico.

immagine tratta da wikipedia

HERPES VIRUS DI TIPO 2:

si tratta dell'HERPES GENITALE, anche in questo caso:

- l'infezione si manifesta tramite VESCICOLE RICCHE DI VIRUS.
- tale infezione diviene PROBLEMATICA E CONTAGIOSA unicamente a seguito dello SCOPPIO.

Si tratta di una patologia molto comune e nonostante il virus erpetico genitale sia differente dal virus erpetico labiale, può divenire pericoloso soprattutto durante il parto: se la donna presenta delle manifestazioni erpetiche di questo genere durante la fase espulsiva, IL BAMBINO PUÒ ESSERE INFETTATO.

- In caso di infezione pregressa il virus da latenza a livello dei gangli sacrali.
- il contagio è possibile unicamente in caso di contatto con una vescicola aperta.



VARICELLA ZOSTER:

si tratta di un virus che contagia per via inalatoria, in particolare si sviluppa in questo modo:

- INCUBAZIONE DI 10-20 giorni che si estrinseca in una patologia respiratoria relativamente significativa.
- ESANTEMA PAPULOSO che si sviluppa:

- IN SEDE RETROAURICOLARE.
- SUL TRONCO.
- SUGLI ARTI.

la PAPULA evolve in questo modo:

- VESCICOLA.
- PUSTOLA che si distingue dalla vescicola in quanto contiene un liquido torbido generato dalla presenza di cellule in situ.
- CROSTA che segue alla rottura della pustola.

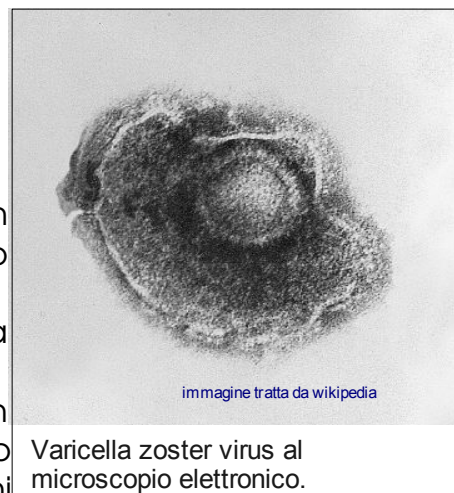
il PRURITO È MOLTO FORTE e il bambino, se non viene lenita la sensazione, si gratta portando eventualmente alla formazione di lesioni permanenti.

SI TRATTA DI UN ESANTEMA A CIELO STELLATO cioè di un esantema a livello del quale si possono riscontrare macule, vescicole e pustole contemporaneamente; tale conformazione SI MANIFESTA UNICAMENTE ALLA TERZA GITTATA e non è apprezzabile inizialmente. La fase esantematica dura circa 10-15 giorni.

- L'ESANTEMA SI RISOLVE PER DESQUAMAZIONE grazie al distacco delle croste.
- per una guarigione completa si deve attendere un mese se non di più.

COMPLICANZE POSSIBILI di tale patologia sono:

- POLMONITE legata al fatto che il virus colpisce per prima cosa l'apparato respiratorio.
- NEUROLOGICHE si tratta generalmente di una CEREBELLITE che compare di solito durante la fase risolutiva della malattia:
 - il bambino non riesce a sostenere la stazione eretta in quanto perde le funzioni di coordinazione motoria.
 - Queste cerebelliti difficilmente danno luogo a DANNI PERMANENTI e si risolvono rapidamente.



Tipico esantema della varicella, risulta abbastanza visibile l'aspetto a cielo stellato dell'esantema legata alla presenza di diverse componenti simultaneamente.

LA LATENZA di questo virus si sviluppa a livello dei GANGLI DORSALI e in caso di riattivazione si manifesta in forma di ZOSTER o FUOCO DI SANT'ANTONIO.

LO ZOSTER:

si tratta di una riemersione del virus piuttosto traumatica e caratterizzata da:

- manifestazione rossastra.
- si estrinseca soprattutto a livello della schiena.
- è molto dolorosa.
- segue il decorso di strutture nervose.

tale manifestazione è chiaramente esclusiva di chi è stato infettato dal virus. Il virus emerge dal ganglio e E PERCORRE IL NERVO CHE DA ESSO ORIGINA andando ad INFETTARE TUTTA LA ZONA DA ESSO INNERVATA formando quindi una infezione localizzata ad un dermatomero.

Tale patologia si manifesta come una VARICELLA LOCALIZZATA ALLA REGIONE INNERVATA DA UN DATO NERVO COLPITO; fondamentalmente si sviluppa in questo modo:

- RIATTIVAZIONE del virus.
- SI MANIFESTA UN DOLORE LOCALIZZATO AL DERMATOMERO INTERESSATO.
- dopo 48-72 ore SI ASSISTE ALLA COMPARSA DI LESIONI VESCICOLARI a livello:
 - toracico.
 - lombare.
 - oftalmico.della durata di 10-15 giorni.
- la completa guarigione avverrà circa in un mese o più.

il DOLORE è un dolore URENTI dovuto al fatto che IL NERVO È INFIAMMATO E VIENE ATTIVAMENTE DANNEGGIATO dal VIRUS.

Tale patologia si può manifestare in diverse situazioni nel corso della vita del paziente ma richiede una IMMUNODEPRESSIONE DECISAMENTE PIÙ CONSISTENTE RISPETTO ALLA NORMALE RIEMERSIONE DELL'HERPES LABIALE.

CAUSE DI RIEMERSIONE DEL VIRUS:

- la riattivazione VIRALE richiede una immunodepressione che può essere legata anche a patologie pericolose come forme neoplastiche in particolare leucemiche.
- la cura di patologie da ipersensibilità come l'ASMA se curate con cortisonici in dosi eccessive possono portare alla riemersione del virus.



Giorno 1

giorno 2

giorno 5

giorno 6

Sviluppo dello zoster nei primi sei giorni

immagini tratte da wikipedia

IL TRATTAMENTO CON ANTIVIRALI a senso nell'ottica di prevenire LA INFEZIONE SISTEMICA, in particolare per persone vicine al malato o per persone clinicamente a rischio come gli anziani. Molto utilizzato è sicuramente l'ACICLOVIR viene spesso

utilizzato nelle terapie antivirali e ad oggi è nota la comparsa di ceppi resistenti a questo tipo di farmaco, soprattutto per quanto riguarda questi virus. Analogamente a quanto avviene per gli antibiotici, anche questi farmaci stimolano mutazioni che rendono i virus resistenti ad essi.



Zoster in fase di sviluppo a livello di uno dei nervi intercostali, l'esantema si sviluppa sia nella parte anteriore che nella parte posteriore del tronco.

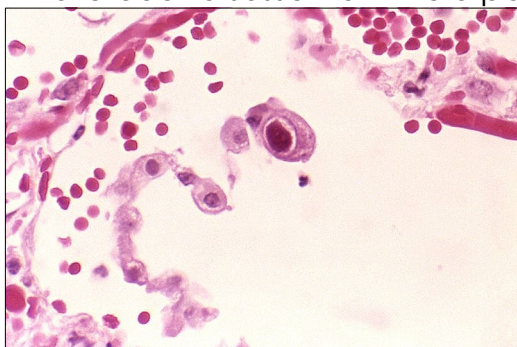
immagine tratta da wikipedia

HERPESVIRUS DI TIPO BETA:

CITOMEGALOVIRUS:

il citomegalovirus è un virus estremamente infettivo ma che genera quella che nella stragrande maggioranza dei casi è una infezione INAPPARENTE:

- nella popolazione dei ventenni i soggetti a infezioni contro questo tipo di virus sono circa il 20%
- nella coorte sessantenni tale percentuale incrementa fino al 60%.



Effetto del citomegalovirus su uno pneumocito in un polmone umano, molto evidente il nucleo ingrossato della cellula.

immagine tratta da wikipedia

Si tratta di un virus che non dà problemi generalmente, tuttavia in alcuni casi può divenire pericoloso:

- DURANTE LA GRAVIDANZA può infettare il bambino dando quella che viene definita MALATTIA CITOMEGALITICA GENERALIZZATA:
 - EPATO E SPLENO MEGALIA chiaramente visibili in particolare in relazione all'addome estremamente gonfio.
 - IL BAMBINO si presenta ENTERICO.
 - PORPORA TROMBOCITOPENICA.

- DANNI NEUROLOGICI soprattutto associati a:

- sordità
- cecità.
- idrocefalia.
- microcefalia visibile quando presente.

spesso il bambino non sopravvive e se sopravvive generalmente presenta danni neurologici estremamente gravi.

- IN PAZIENTI IMMUNODEPRESSI soprattutto per i pazienti trapiantati una infezione da parte di questo virus può generare:

- epatiti gravi.
- polmoniti gravi.

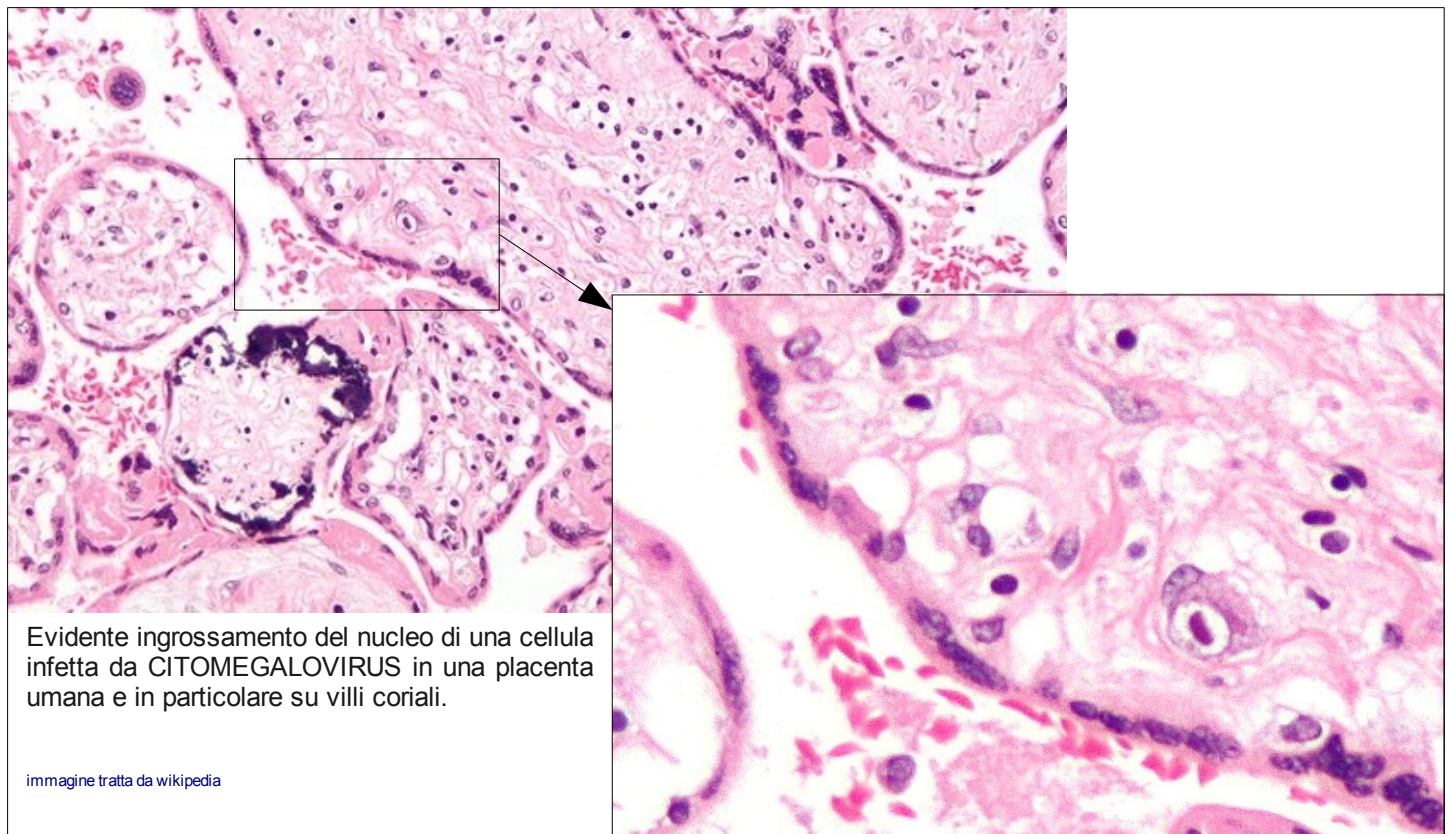
e altre patologie che possono COSTRINGERE IL MEDICO A BLOCCARE LE TERAPIE DI NATURA IMMUNOSOPPRESSIVA essenziali ad impedire il rigetto.

DIAGNOSI:

diagnosi per infezioni di questo tipo di virus si eseguono tramite:

- SHELL VIAS: sappiamo che tale virus rimane latente a livello di ghiandole salivari e dei tubuli renali, viene quindi eliminato con le relative secrezioni; NEL TRAPIANTATO è quindi inutile cercare il virus con lo SHELL VIAS dalla saliva o dalle urine in quanto tutti quanti hanno avuto infezioni da citomegalovirus, lo eliminano in questo modo, trovare il virus in questa sede NON HA CIOÈ SIGNIFICATO CLINICO. Nei trapiantati si cerca un segno di maggior rilievo CLINICO che è LA RICERCA DEL VIRUS NEL SANGUE:
 - si esegue un ematocrito.
 - si preleva il buffy coat dal campione.
 - si ricerca il virus nelle cellule che possono essere da esso infette.
- TORCH¹: si tratta di una SERIE DI ANALISI ESEGUITE TIPICAMENTE DURANTE O PRIMA DELLA GRAVIDANZA.

1 TOxoplasmosi, Rosolia, Citomegalovirus, Herpesvirus.

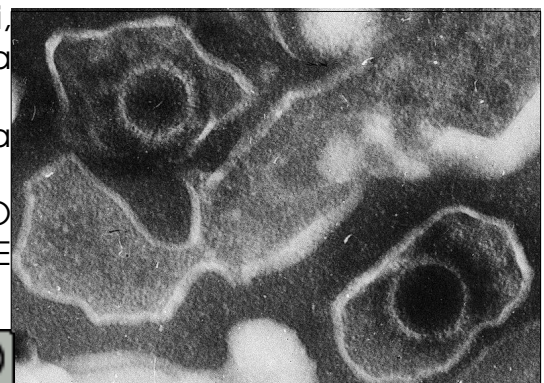


GLI HERPES VIRUS GAMMA

IL VIRUS DI EPSTEIN BARR:

si tratta del virus causa della mononucleosi, malattia molto variabile dal punto di vista sintomatologico, in particolare:

- INFEZIONE deriva generalmente dalla saliva.
- IL VIRUS SI MOLTIPLICA NEL TESSUTO LINFOIDE in particolare nella OROFARINGE

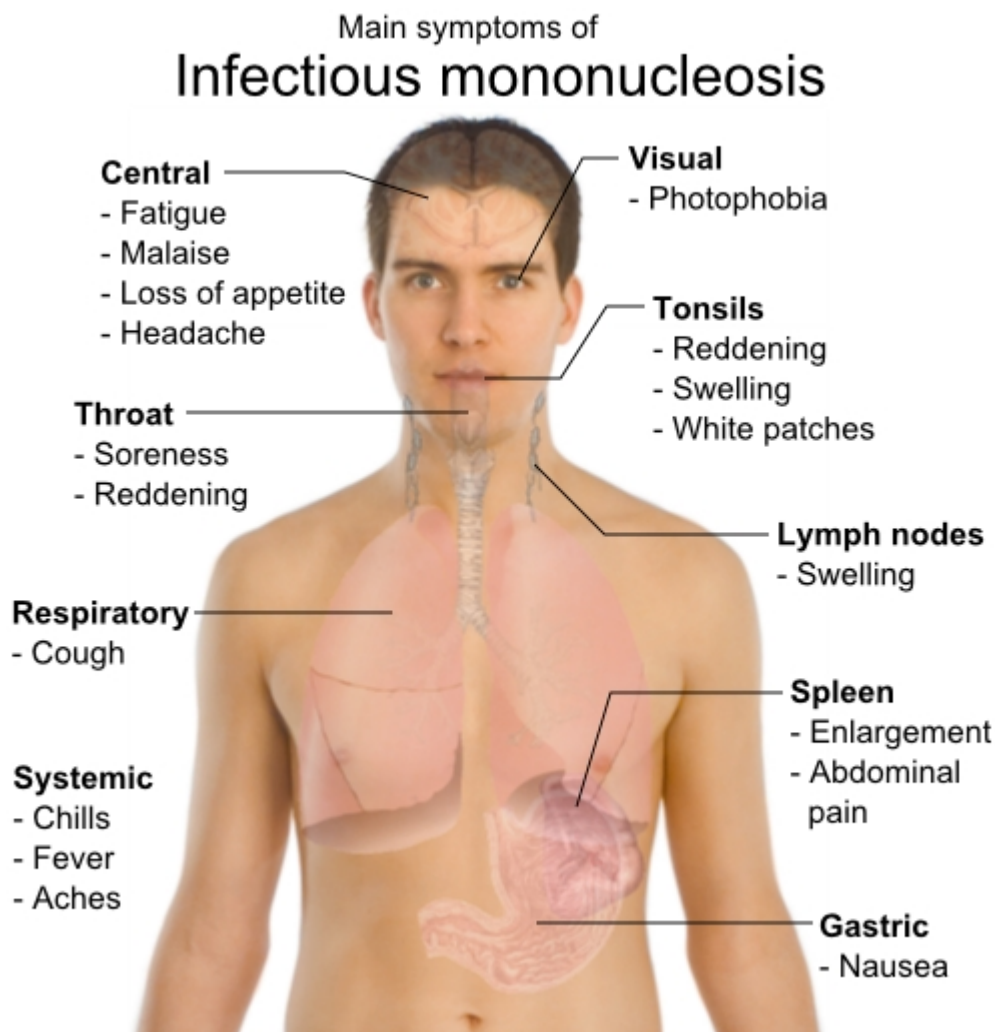


Due virioni del virus di epsteinn barr al microscopio elettronico.

immagine tratta da wikipedia



- dove si trovano le tonsille.
- L'INFEZIONE DIVIENE SISTEMICA provocando:
 - febbre.
 - astenia.
 - linfadenopatia diffusa.
 - epatite a volte.
- COMPLICANZE TIPICHE in particolare di natura ONCOGENA possono essere:
 - linfoma di burkitt delle cellule B, in Africa soprattutto
 - linfoma nasofaringeo delle cellule B soprattutto nei paesi asiatici.



LA DIAGNOSI:

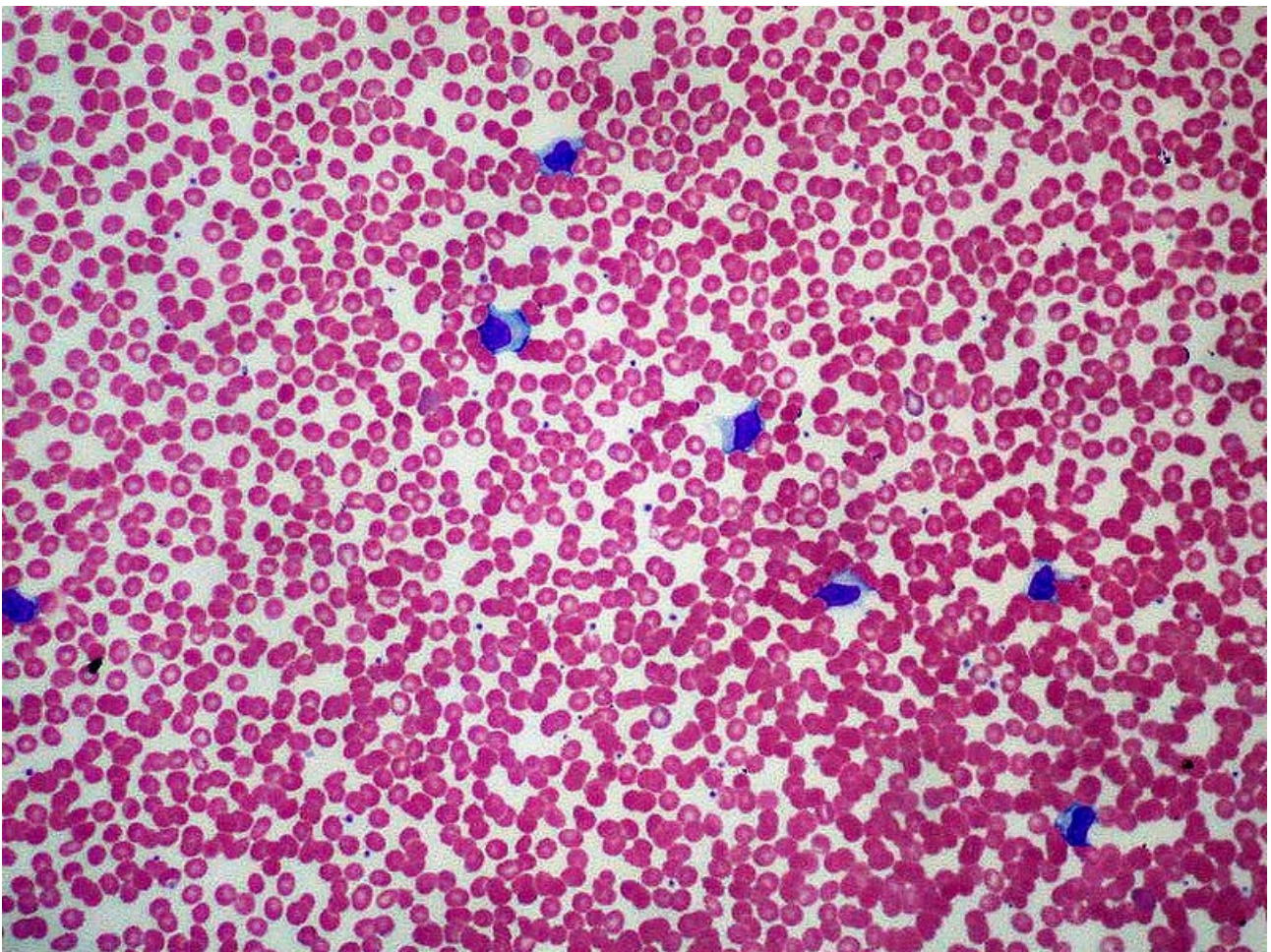
si esegue generalmente un monotest: si tratta della ricerca di anticorpi eterofili con globuli rossi di montone, si sfrutta la cross reattività degli anticorpi umani con i globuli rossi di tale animale.

ALLA OSSERVAZIONE DELLO STRISCIO DI SANGUE PERIFERICO si possono individuare delle CELLULE B DEFORMATE che presentano una conformazione tipica per diverse

patologie:

- il linfoma di burkitt.
- le leucemie.
- la mononucleosi.

tanto che spesso si fa confusione tra le diverse patologie in questione.



RICERCA DI ANTICORPI CONTRO ALCUNI ANTIGENI IMPORTANTI che si esegue per determinare quale sia lo stato di attivazione del virus soprattutto in soggetti a rischio:

- VCA viral capsid antigen.
- EA early antigen.

- EBNA epstein barr nuclear antigen.

per quanto riguarda la MONONUCLEOSI ricordiamo due costanti a livello sintomatologico, in particolare:

- FARINGOTONSILLITE.
- LINFOADENOPATIA.

Il virus di epsteinn barr è tuttavia associato a linfomi come:

- linfoma di burkitt.
- carcinoma nasofaringeo che di fatto si presenta istologicamente come un linfoma.
- malattia linfoproliferativa.

per quanto riguarda la patologia linfoproliferativa È POSSIBILE CHE A SEGUITO DI FATTORI IMMUNODEPRESSIVI si RIATTIVI IL VIRUS INSEDIATO NELLE CELLULE B; in questo caso è necessario:

- bloccare la immunodepressione.
- agire in modo pronto e rapido

nel caso in cui la malattia evolva può divenire un LINFOMA estremamente pericoloso.

GLI ARBOVIRUS

Si tratta di una famiglia composta di centinaia di virus che come unico punto in comune presentano la necessità, per divenire infettivi, di essere veicolati DA ARTROPODI: la loro trasmissione è garantita da ANIMALI QUALI ZECCHIE, ZANZARE e altri tipi di insetti. All'interno di questo gruppo di virus si possono trovare numerosissimi generi virali anche molto lontani tra loro. Chiaramente anche in questo caso:

- l'artropode non presenta la patologia.
- l'uomo è un ospite accidentale del virus.

all'interno di questa famiglia possiamo trovare patogeni appartenenti alle famiglie:

- TOGAVIRIDAE
- BUNYAVIRIDAE
- REOVIRIDAE
- RHABDOVIRIDAE
- FLAVIVIRIDAE

naturalmente non tutte le componenti virali delle famiglie sopra citate appartengono al gruppo degli ARBOVIRUS.

Questi virus possono causare complicazioni e malattie quali:

- MALATTIE BATTERICHE di scarso interesse in quanto la infezione virale si risolve senza troppi problemi e viene curata generalmente la infiammazione batterica.
- FEBBRI EMORRAGICHE.
- ENCEFALITI: molto pericolosa è soprattutto la TBE o T-born encefalitis, malattia
 - emersa da poco a livello delle zone montuose del triveneto.
 - veicolata da zecche infette.

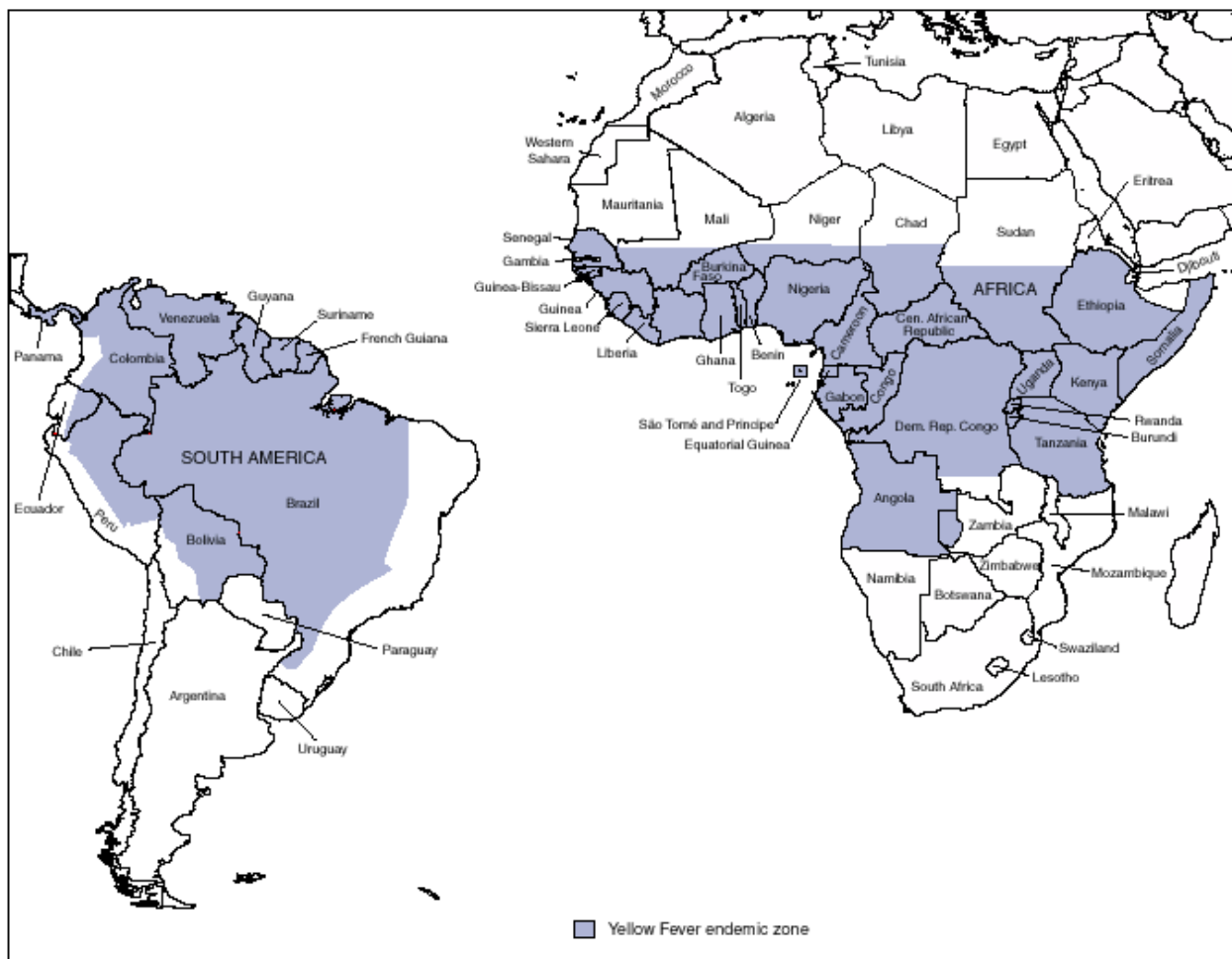
molte delle malattie veicolate da artropodi sono relativamente rare nei nostri climi per il momento anche se probabilmente l'ecologia dei vettori coinvolti andrà a mutare nel tempo: un tipico esempio è la recente emersione del west Nile virus in Italia.

LA FEBBRE GIALLA:

si tratta di un archetipo di questo tipo di malattie e si sviluppa in questo modo:

- viene inoculata da una zanzara infetta.
- genera una viremia transitoria.
- il virus si porta ad organi come fegato e milza principalmente.
- si moltiplica.
- genera una viremia secondaria.
- si porta in modo molto massiccio ad organi quali:
 - FEGATO.
 - GRANDI VASI.
 - ENCEFALO.

FIGURE 1. Yellow Fever endemic zones



I TOGAVIRUS

possiamo distinguere due categorie per quanto riguarda questi virus:

- TOGAVIRUS alfa CHE RIENTRANO NELLA CATEGORIA DEGLI ARBOVIRUS.
- TOGAVIRUS ruby TRA CUI TROVIAMO IL VIRUS RESPONSABILE DELLA ROSOLIA.

IL VIRUS DELLA ROSOLIA:

si tratta di un virus strutturalmente caratterizzato da:

- RNA monocatenario a polarità positiva.
- presenta un pericapside.
- si replica a livello citoplasmatico.
- ha attività emoagglutinante.

la rosolia di per se non da moltissimi problemi, si tratta di una malattia che nel paziente sano e normale si manifesta principalmente come un esantema, TALE VIRUS È TUTTAVIA MOLTO PERICOLOSO SE CONTRATTO IN GRAVIDANZA e può generare dei problemi enormi.

LA MALATTIA:

fondamentalmente si sviluppa in questo modo:



- INFEZIONE PER VIA INALATORIA si tratta di una malattia estremamente contagiosa.
- INCUBAZIONE che supera per durata anche le tre settimane: in questo periodo il virus si moltiplica nelle vie respiratorie.
- VIREMIA PRIMARIA.
- si porte a strutture reticolari o endoteliali.
- VIREMIA SECONDARIA: generalmente fino al raggiungimento di questa fase non si hanno sintomi.
- FASE PRODROMICA durante la quale si manifestano alcuni segni clinici:
 - febbre che raramente sale sopra i 38gradi.
 - infezioni generalmente delle vie respiratorie alte; non sempre presente.
 - linfadenopatia a disposizione retroauricolare e suboccipitale: soprattutto la disposizione suboccipitale della linfadenopatia è strettamente indicativa della patologia in questione.
- RASH CUTANEO MACULO PAPULARE che:
 - si sviluppa dalla faccia al tronco.
 - Si presenta non confluyente.L'esantema si manifesta unicamente nel 50% dei casi.
- SI HA UNA RISOLUZIONE SPONTANEA IN 3-5giorni.



Esantema tipico della rosolia.

immagine tratta da wikipedia

ROSOLIA CONNATALE:

si tratta di una infezione materno fetale molto grave, può generare:

- PROBLEMI OCULARI SERI:
 - cecità.
 - Microftalmia.
 - Glaucoma.
 - Cataratta.
- PROBLEMI DI ORDINE Uditivo:
 - sordità cocleare.
 - Sordità centale.
- PROBLEMI DI ORDINE NEUROLOGICO:
 - microcefalia.
 - ritardo mentale.
 - eventualmente autismo.
- PROBLEMI DI NATURA SISTEMICA:
 - eptosplenomegalia molto evidente.
 - porpora trombocitopenica.
 - polmonite interstiziale.
 - malformazioni cardiache quali pervietà del dotto arterioso o stenosi della arteria polmonare.
- il neonato è inoltre INFETTIVO e fino a due anni dalla nascita e immette virus



Cataratta (perdita di trasparenza del cristallino) in un bambino affetto da rosolia congenita.

immagine tratta da wikipedia

nell'ambiente.

LA VACCINAZIONE PER LA ROSOLIA:

tale vaccinazione è stata eseguita in modo massiccio soprattutto nelle donne e ha contribuito in modo fondamentale al netto decremento della incidenza di tale malattia.

LE EPATITI VIRALI

i virus con epatotropismo presenti in natura sono molto numerosi e oltre ai patogeni virali direttamente associati ad epatite, possiamo sottolineare come:

- il virus di epsteinn barr
- il virus della febbre gialla
- il citomegalovirus.

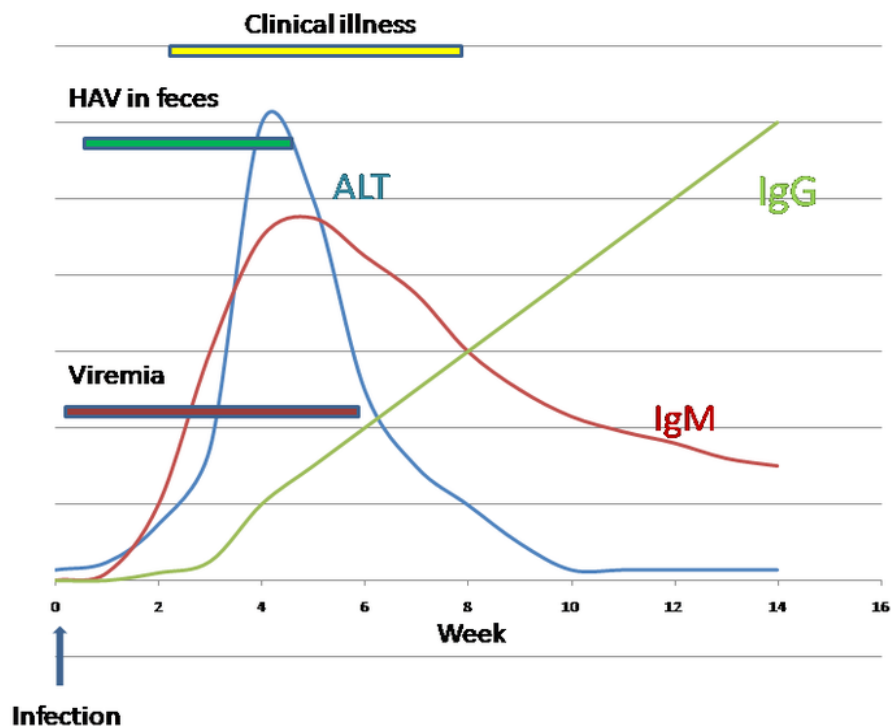
Possano causare EPATITI.

L'EPATITE A:

il virus della epatite a è un PICORNAVIRUS, in particolare l'enterovirus A72, che presenta una patogenicità particolare. L'epatite A è una epatite molto diversa dalle altre infatti:

- si acquisisce per via orofecale analogamente alla SALMONELLA e altri tipi di infezioni batteriche.
- Presenta una INCUBAZIONE BREVE, intorno ai 15 giorni durante i quali si possono trovare alcune transaminasi aumentate nel sangue: IN QUESTO PERIODO il virus COMPARE NEL SANGUE IN MODO RAPIDO per essere poi CATTURATO DAL FEGATO.
- Dopo qualche giorno IL PAZIENTE SI PRESENTA FRANCAMENTE ITTERICO.
- Si presentano delle TURBE INTESTINALI quali:
 - diarrea.
 - nausea.
 - vomito.
- IL PAZIENTE GUARISCE SEMPRE e la MALATTIA NON CRONICIZZA MAI.

la patologia ha un andamento stagionale, si propaga soprattutto d'estate e un tempo veniva detta ITTERITE.



LA DIAGNOSI:

si esegue una diagnosi sierologica ricercando IMMUNOGLOBULINE CONTRO ANTIGENI DEL VIRUS.

L'EPATITE B:

si tratta di un EPADNAVIRUS: virus a DNA con TROPISMO EPATICO. È un virus particolare:

- presenta un DNA parzialmente bicatenario di forma circolare.
- Dotato di pericapside.
- Presenta all'interno del capside una DNA polimerasi VIRUS SPECIFICA.
- presenta alcuni ANTIGENI IMPORTANTI a livello diagnostico quali:
 - HBsAg o antigene DI SUPERFICIE.
 - HBcAg o antigene DEL CORE.
 - HBeAg.

LA REPLICAZIONE VIRALE:

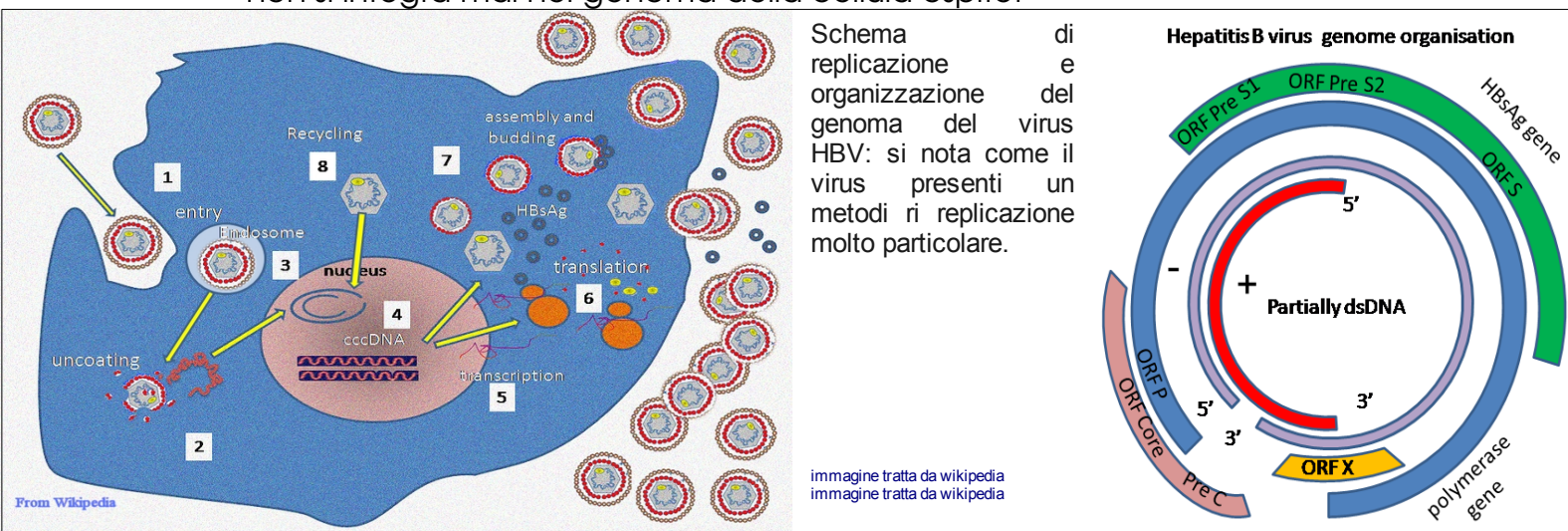
Si tratta di un virus che presenta delle modalità di replicazione particolari, possiamo dire che:

- aderisce alla superficie della cellula.
- Penetra nella cellula.
- Scapsidizza.
- una volta liberato nella cellula:
 - IL DNA PARZIALMENTE BICATENARIO viene COMPLETATO DALLA DNA POLIMERASI VIRALE formando un DNA VIRALE COMPLETO CIRCOLARE.
 - Vengono quindi PRODOTTI, grazie ad enzimi cellulari, DEGLI RNA, in particolare:
 - ALCUNI mRNA TRA CUI TROVIAMO UNA SEQUENZA CODIFICANTE PER

UNA TRASCRITTASI INVERSA.

- UN GRANDE mRNA detto PREGENOMA: LA TRASCRITTASI INVERSA, codificata dagli mRNA prodotti inizialmente, PRODUCE IL DNA NECESSARIO AL VIRUS.

a questo punto le componenti prodotte dagli mRNA e il GENOMA NEOFORMATO FORMANO IL NUOVO VIRIONE. Non si tratta di un retrovirus, non si integra mai nel genoma della cellula ospite.



LA INFEZIONE DA HBV:

questo virus PRESENTA LA MEDESIMA EPIDEMIOLOGIA DELL'HIV, si trasmette cioè:

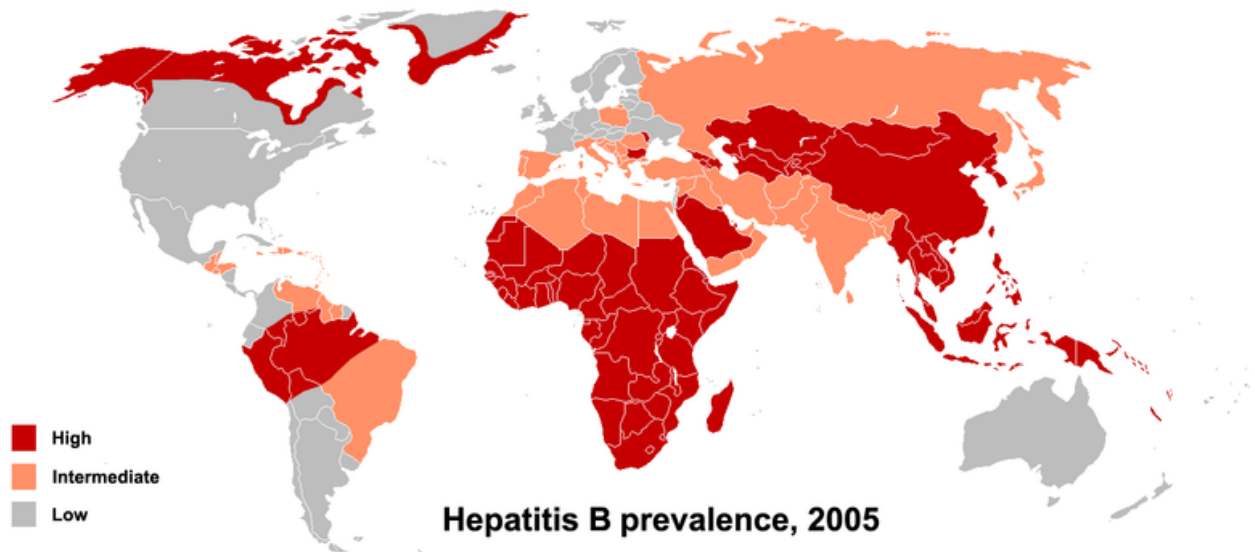
- tramite rapporti sessuali a rischio.
- Tramite l'uso promiscuo di siringhe.
- Tramite trasfusioni.
- Tramite uso di emoderivati.

Significativi sono sicuramente i casi di bambini che nascono da MADRI HBV POSITIVE: un quinto di questi bambini sarà affetto da epatite virale.

Si tratta di una malattia abbastanza diffusa, soprattutto:

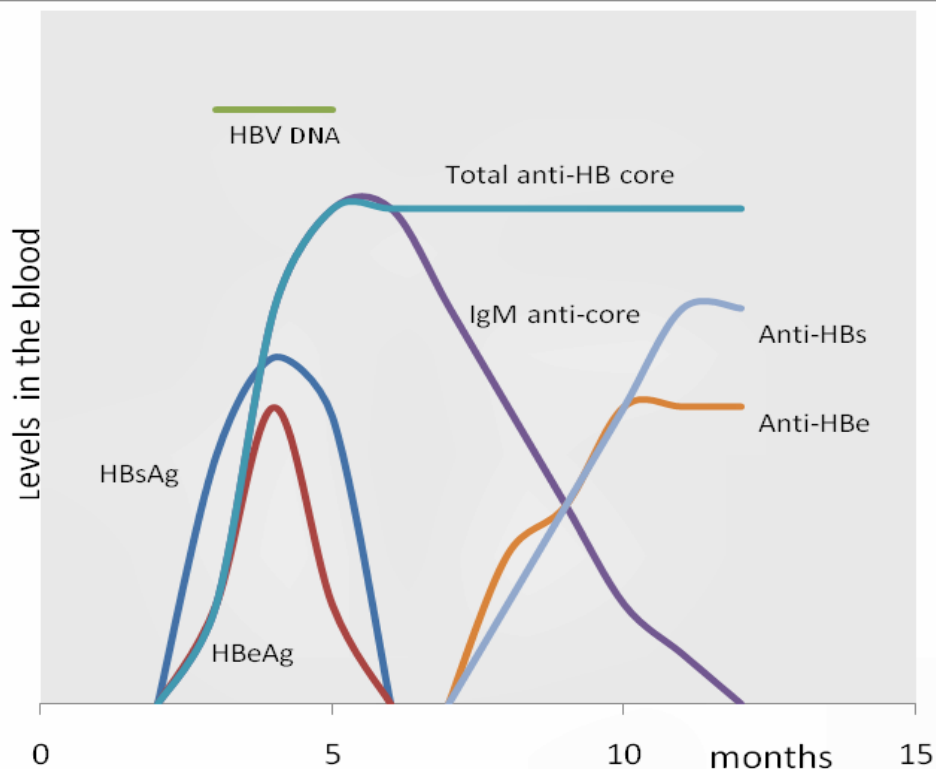
- sud del mondo.
- in alcune regioni dell'Asia.
- In Alaska e nord del Canada.

dove presenta una diffusione addirittura superiore all'8%.



LA MALATTIA SI EVOLVE IN QUESTO MODO:

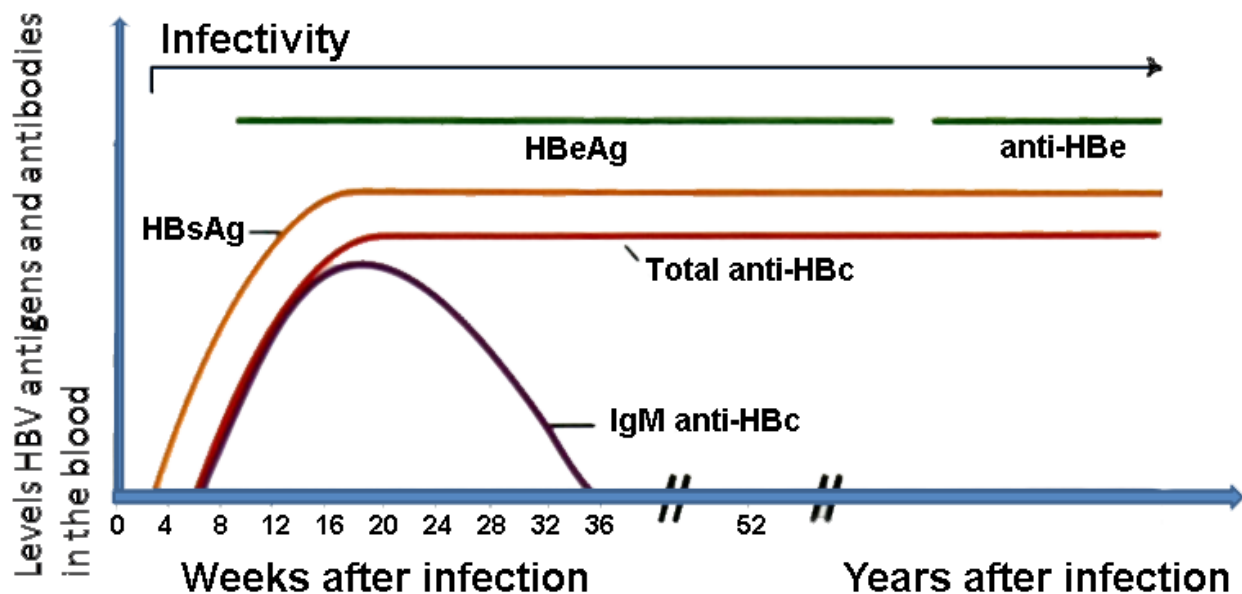
1. PERIODO DI INCUBAZIONE durante il quale COMPARE NEL SANGUE L'HBsAg, marcatore fondamentale, seguito dall'HBeAg e dall'HBcAg.
2. inizialmente vengono prodotti moltissimi anticorpi anti HBcAg: in questa fase IL PAZIENTE è ancora ASINTOMATICO o paucisintomatico, almeno inizialmente.
3. NELLA FASE AVANZATA DELLA MALATTIA vengono prodotti poi ANTICORPI ANTI HBsAg: con la attività di questo tipo di molecole viene direttamente bloccata la propagazione del virus e si passa alla fase di CONVALESCENZA.



ALCUNI PAZIENTI NON PRODUCONO ANTICORPI ANTI HBsAg: questi pazienti

VANNO INCONTRO AD UNA EPATITE CRONICA:

- L'ANTICORPO ANTI HBsAg è L'UNICO ANTICORPO VERAMENTE EFFICACE CONTRO IL VIRUS.
- Se non viene bloccato dal sistema immunitario, il virus continua a produrre danni considerevoli alle cellule epatiche.



LA SINTOMATOLOGIA:

si tratta di una sintomatologia che può risultare per alcuni aspetti anche difficilmente riscontrabile, in particolare si manifesta con:

1. febbre non molto alta.
2. anoressia.
3. nausea vomito.
4. ITTERO legato al mancato smaltimento dei pigmenti biliari.
5. URINE SCURE legate allo smaltimento di pigmenti in circolo.
6. FECEI CHIARE vengono dette acoliche: questo è dovuto al fatto che i pigmenti biliari non vengono escreti nel tubo digerente e di conseguenza non colorano il materiale fecale.
7. dolore addominale.
8. rash cutaneo.
9. artralgie occasionali.

Sintomatologia e frequenza sono molto differenti da caso a caso:

- EPATITE B PEDIATRICA:
 - NON SVILUPPA SINTOMI PARTICOLARI.
 - MANIFESTAZIONI CLINICHE PRESENTI SOLO NEL 3-15% DEI CASI TRA 1 E 5 ANNI.
- EPATITE ADULTA:

- sintomatologia più frequente, interessa il 33-50% dei casi.
- 1-2% dei casi va incontro ad una EPATITE FULMINANTE molto GRAVE E A SINTOMATOLOGIA GRAVISSIMA che presenta una mortalità variabile dal 63 al 93% dei casi.

Per quanto riguarda l'EPATITE CRONICA questa si stabilisce nel momento in cui si abbia la presenza di HBsAg nel siero per almeno sei mesi in assenza di anticorpi specifici contro di esso; distinguiamo anche in questo caso:

- frequenza PEDIATRICA:
 - per i bambini che vanno incontro a infezioni perinatali si hanno fenomeni di cronicizzazione fino al 90% dei casi: questa elevatissima frequenza è dovuta alla mancanza di anticorpi specifici prodotti dal neonato.
 - Per i bambini che contraggono l'infezione tra 1 e 5 anni l'infezione diviene cronica nel 25-50% dei casi.
- Frequenza ADULTA:
 - nell'adulto l'infezione diviene cronica nel 10% dei casi.
 - più aumenta l'età di acquisizione, minore è il rischio di cirrosi ed epatocarcinoma: questo è legato, ovviamente, alla estrema lunghezza dello sviluppo della patologia.

Risulta in ogni caso fondamentale la profilassi nel trattamento della DONNA HBV POSITIVA.

TERAPIA:

L'unica terapia utile per l'epatite FULMINANTE è il trapianto: questo ha significato non tanto in relazione alla sparizione immediata della patologia, quanto piuttosto in relazione alla SPERANZA CHE IL TRAPIANTATO NON VADA INCONTRO AD UNA SECONDA EPATITE FULMINANTE. Per quanto riguarda l'epatite cronica, il decorso della malattia è tanto lento che il paziente sopravvive generalmente senza problemi fino alla acquisizione di una cirrosi franca.

A LIVELLO LABORATORISTICO:

l'antigene HbS è sicuramente il segno maggiormente significativo di epatite in corso, in ogni caso tale diagnosi viene verificata tramite anticorpi anti antigene C. Si richiedono in ogni caso spesso marcatori quali:

- HBsAg.
- AntiHBsAg: la presenza di questo marcatore indica CHE LA MALATTIA È IN FASE RISOLUTIVA in quanto l'anticorpo in questione è l'unico veramente efficace contro L'HBV,
- antiHBcAg sia in forma di IgG che in forma IgM.
- HBeAg.
- antiHBeAg.

L'EPATITE DELTA:

l'epatite delta non esiste di fatto come una patologia indipendente: ma il virus esiste e si propaga nell'uomo come un VIRUS DEFETTIVO nel senso che VIVE SOLO SE È PRESENTE IL VIRUS DELL'EPATITE B. Questa stretta correlazione è legata al fatto che il virus HDV SI AVVOLGE DI ANTIGENI HbsAg come unico modo di sopravvivere in circolo.

LA COPRESENZA DI QUESTI DUE VIRUS DA VITA GENERALMENTE AD EPATITI DI

MAGGIORE GRAVITÀ; PER QUESTO MOTIVO VALE LA PENA DI CERCARE ANCHE L'ANTIGENE D o delta.

L'EPATITE C:

tale epatite è nota relativamente da poco tempo venne per anni definita come epatite NON A NON B. Il patogeno in questione è:

- un virus a RNA positivo a singolo strand.
- Dotato di capsida cubico.
- Dotato di pericapside.
- Presenta una ELEVATISSIMA TENDENZA ALLA CRONICIZZAZIONE in quanto DA FENOMENI DI VARIAZIONE ANTIGENICA CONTINUI legati soprattutto a due proteine E1 ed E2.

permane spesso silente per lunghissimo tempo durante il quale il fegato viene danneggiato in modo relativo: l'impatto della patologia dipende fondamentalmente dal momento in cui viene contratta, analogamente a quanto detto per infezioni da HBV croniche.

È importante sottolineare il fatto che sembra vi siano delle associazioni tra HCV e altre patologie quali:

- SINDROME DA SJORGEN.
- ARTRITE REUMATOIDE.
- FIBROSI POLMONARE.
- ULCERAZIONI CORNEALI.
- ANEMIA PLASTICA.
- LINFOMI NON HODKING.

NON È UN VIRUS TRASFORMANTE quindi non modifica le cellule in senso neoplastico.

SINTOMATOLOGIA:

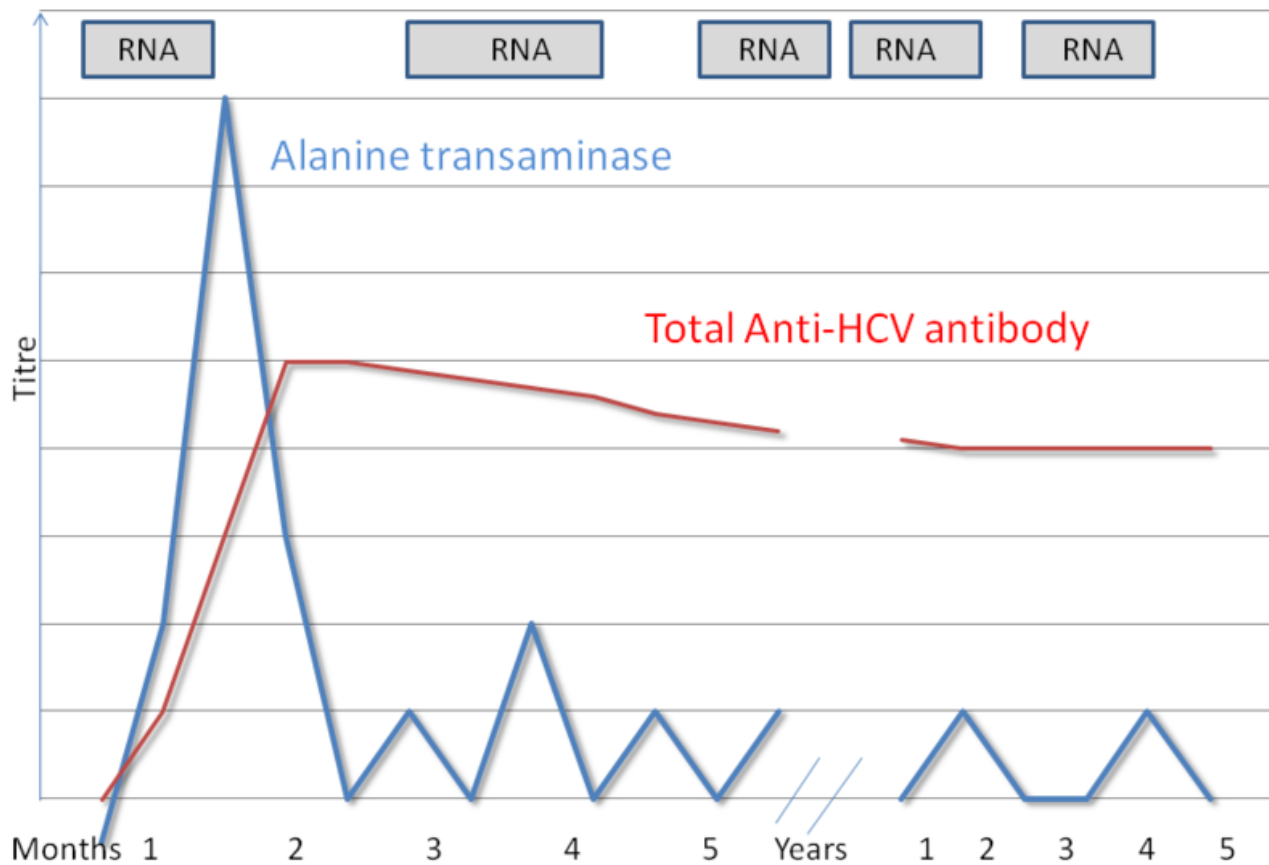
- soltanto in 5% dei pazienti con infezioni acute presenta sintomi quali:
 - anoressia.
 - astenia.
 - nausea
 - raramente ittero.

Ad eccezione dell'ultimo, tutti sintomi relativamente scarsamente identificabili.

- cirrosi epatica ed epatocarcinoma compaiono dopo molti anni: il 20% dei pazienti presenta una cirrosi solo dopo 20 anni dalla infezione.
- Si stima che il 60-90% dei casi di epatocarcinoma siano HCV positivi.
- IL RISCHIO DI TRASMISSIONE SESSUALE È MOLTO BASSO.

Sono a disposizione anche metodi di analisi immunoenzimatica: l'unico problema legato a questo tipo di metodologia è la scelta di un antigene che permanga stabile nel tempo.

Il profilo dei marcatori è in ogni caso tipico di una patologia i cui antigeni variano nel tempo:



HPV

si tratta di un virus:

- appartenente alla famiglia delle papillomaviridae: fanno parte dei PAPOVAVIRUS cioè papilloma polioma virus.
- presentano struttura eicosaedrica dotata di 72 capsomeri.
- presentano un GENOMA A DNA A DOPPIO FILAMENTO.
- sono relativamente PICCOLI, hanno un diametro di 45-55nm.
- SONO PRIVI DI PERICAPSIDE.

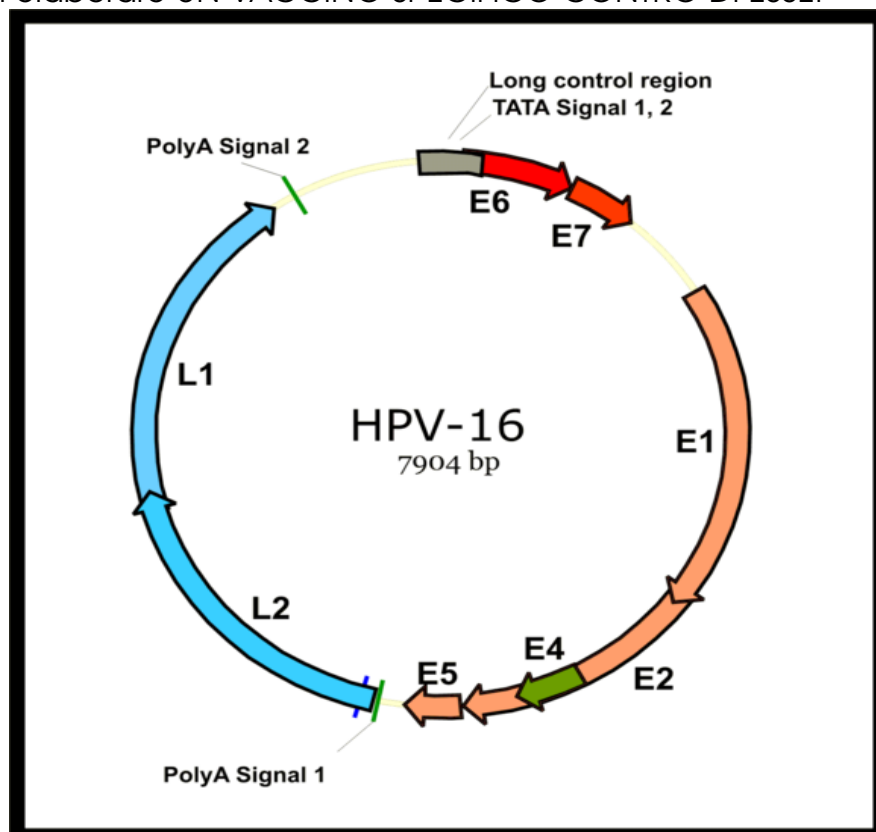
LA STRUTTURA ESTERNA è COSTITUITA DI FRAMMENTI PROTEICI ORGANIZZATI IN MODO MOLTO REGOLARE.

IL GENOMA DEL VIRUS:

presenta delle particolarità strutturali; in particolare possiamo ricordare alcune sequenze fondamentali:

- E6-E7 sono le due PROTEINE TRASFORMANTI, si tratta infatti di un VIRUS ONCOGENO.
- E1 sequenza codificante per proteine di replicazione.
- E2 sequenza essenziale per i processi di replicazione e trascrizione.
- L2 proteina capsidica minore.
- L1 proteina capsidica maggiore.

i geni L2 ed L1 sono estremamente importanti in quanto SONO STRUTTURALMENTE MOLTO VARIABILI TRA I DIVERSI ISOTIPI: queste sequenze consentono di DISTINGUERE I CEPPI TRASFORMANTI DA QUELLI NON TRASFORMANTI e hanno consentito di elaborare UN VACCINO SPECIFICO CONTRO DI ESSE.



PATOLOGIE ASSOCIATE AD HPV:

questo virus è in grado di generare patologie molto diverse tra loro, ricordiamo in particolare:

- VERRUCHE PLANTARI E PALMARI.
- PAPILLOMATOSI RESPIRATORIA RICORRENTE.
- EPIDERMODISPLASIA VERRUCIFORME.
- CONDILOMI ACCUMINATI O PIANI: si tratta di malattie a trasmissione sessuale che colpiscono sia il maschio che la femmina.
- CONDILOMI PIANI DELLA CERVICE che possono ESSERE PREDITTIVI DI UN CARCINOMA DEL COLLO DELL'UTERO.

CONDILOMA e CONDILOMATOSI, oltre a risultare distinguibili per il diverso numero di lesioni che provocano, ricordiamo:

- sono entrambi associati alla comparsa di displasie della cervice soprattutto.
- le DISPLASIE provocate da questo tipo di lesioni possono o meno evolvere a NEOPLASIE.

IL CONDILOMA non guarisce spontaneamente se non in casi rarissimi e l'unica terapia utile è la ELIMINAZIONE CHIRURGICA.

L'INFEZIONE:

fondamentalmente il virus:

- penetra la mucosa.
- raggiunge le cellule dello strato basale.
- porta alla formazione di displasie anche gravi.

ALLA BASE DELLA TRASFORMAZIONE POSSIAMO RICONOSCERE LA ESPRESSIONE CELLULARE DI E6 ED E7 che di fatto portano ad un quadro di questo tipo:

- LA CELLULA PERDE IL CONTROLLO DELLA CRESCITA CELLULARE.
- PROLIFERA.
- PUÒ DARE VITA A CARCINOMI.

CANCRO DELLA CERVICA UTERINA:

il cancro della cervice uterina risulta causato:

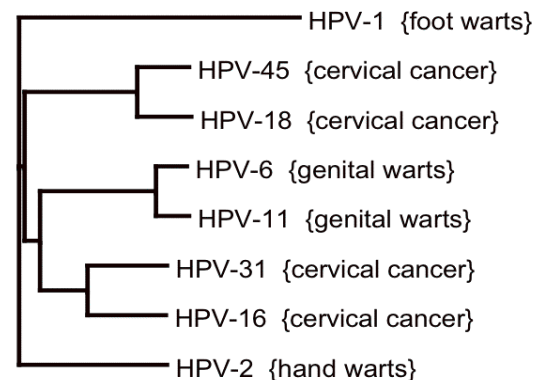
- nel 55% dei casi da HPV 16.
- nel 14-16% dei casi da HPV 18.
- nel 6% dei casi da HPV 31.
- nell'8% dei casi da HPV 45.

ricordiamo inoltre che 16-18-6-11 sono i genotipi ad elevata trasmissione e che più di frequente si riscontrano nelle infezioni.



Papilloma causato da una infezione da HPV, come accennato, l'unica terapia utile per rimuovere queste lesioni è chirurgica.

immagine tratta da wikipedia



0.05

IL VACCINO:

SOSTANZIALMENTE SI FORMANO DELLE VIRUS LIKE PARTICELS costituite in particolare a partire dalle sequenze L1 derivate dai genotipi:

- 16 e 18 per il loro particolare coinvolgimento a livello oncogeno.
- 6-11 per la loro elevata trasmissione nell'ottica di eliminare il più possibile la popolazione virale.

Si tratta di un vaccino EFFICACE ma presenta COSTI ESTREMAMENTE ELEVATI.

Le limitazioni imposte nelle campagne vaccinali è legata non tanto alla efficacia del virus nelle diverse fasce d'età, il punto è il cercare una fascia di popolazione:

- che non dovrebbe essere stata esposta ad HPV.
- per cui risulti facile eseguire una campagna diffusa che copra la maggior parte della popolazione femminile.

I PARVOVIRUS:

sono gli UNICI VIRUS che presentano DNA A SINGOLA ELICA; strutturalmente presentano:

- simmetria icosaedrica.
- sono privi di pericapside, sono virus nudi.

la replicazione di questi virus presenta delle peculiarità legate proprio alla peculiare natura del materiale genetico: il DNA MONOCATENARIO viene trasformato in DNA BICATENARIO DA ENZIMI CELLULARI, a seguito di questo la replicazione procede normalmente. Entrambi gli enzimi polimerasici utilizzati dal virus sono di DERIVAZIONE CELLULARE.

VIRUS DI QUESTA CATEGORIA SONO:

- MOLTI VIRUS ANIMALI.
- MOLTI VIRUS UMANI tra cui ricordiamo:
 - erytrovirus in particolare l'erytrovirus B19.
 - dependovirus: sono virus DEFETTIVI che si presentano unicamente in presenza di ADENOVIRUS.
 - bocavirus.

ERITROVIRUS B19:

si tratta dell'agente eziologico di diverse patologie tra cui ricordiamo la QUINTA MALATTIA, ricordiamo che:

- si trasmette per via aerea.
- si associa all'antigene P presente su eritrociti circolanti e su altre cellule.
- produce quadri quali:
 - LA QUINTA MALATTIA O ERITEMA INFETTIVO o MEGALOERITEMA.
 - ANEMIA PLASTICA: si tratta di una anemia che nasce da una mancata produzione di globuli rossi.
 - FETOPATIA.
 - ARTROPATIA.

si tratta quindi di un VIRUS A SINTOMATOLOGIA PARTICOLARMENTE VARIA.

LA QUINTA MALATTIA:

si tratta del quadro più frequente causato da questo virus:

- l'infezione si trasmette per via AEREA.
- presenta una incubazione fino a 2 settimane.
- si manifesta come un esantema maculo papulare confluyente al volto che si sviluppa cronologicamente in questo modo:
 - viso.
 - tronco.
 - arti.



L'ESANTEMA COLPISCE SOPRATTUTTO IL VOLTO E IL BAMBINO ASSUME il tipico aspetto da BAMBINO SCHIAFFEGGIATO.

ANEMIA PLASTICA:

si tratta di una anemia grave e sembra COLPISCA PAZIENTI CHE PRESENTANO

CONDIZIONI PATOLOGICHE ASSOCIATE ALLA PRODUZIONE DI ERITROCITI, fondamentalmente si manifesta come:

- una grave anemia.
- una forte diminuzione o scomparsa dei reticolociti.

FETOPATIA:

si tratta di una patologia che porta a:

- aborti spontanei.
- idrope fetale: si tratta di un EDEMA GENERALIZZATO MOLTO IMPORTANTE

ARTOPATIA:

questo virus genera delle poliartriti simmetriche, colpiscono cioè in modo SIMMETRICO PIÙ DI UNA ARTICOLAZIONE:

- più frequente negli adulti donne.
- colpisce mani, polsi e ginocchia.
- dura trenta giorni per mesi o anni.

Per quanto riguarda queste patologie, è necessario eseguire una diagnosi differenziale rispetto alla artrite reumatoide.

ANALISI DI LABORATORIO:

Si possono eseguire ricerche:

- IMMUNOENZIMATICHE tramite ELISA.
- ricerca di SEQUENZE TRAMITE PCR: tale esame si esegue generalmente per studiare casi particolari come talassemici colpiti da anemia plastica non spiegabile in altri termini.

I REOVIRUS:

si tratta di virus caratterizzati da una struttura particolare:

- con il termine REOVIRUS si parla di RESPIRATORY ENTERIC ORPHAN VIRUS: inizialmente difficilmente individuabili, vennero classificati in questo modo in quanto generavano manifestazioni soprattutto in tale ambito.
- presentano una SIMMETRIA EICOSAEDRICA CON DUE CAPSIDI, interno ed esterno.
- NUDI.
- presentano un RNA A DOPPIA ELICA SEGMENTATO.
- il capside CONTIENE UNA RNA POLIMERASI.
- REPLICA IN SEDE CITOPLOSMATICA.

LA REPLICAZIONE avviene in modo fondamentalmente normale e le componenti vengono sintetizzate a partire dall'RNA contenuto nel capside, ricordiamo in ogni caso che le fasi di assemblaggio sono due:

- fase di assemblaggio parziale durante la quale viene assemblato il primo capside.
- fase di assemblaggio completo durante la quale avviene l'assemblaggio del secondo capside.

a questo gruppo appartengono virus molto diversi:

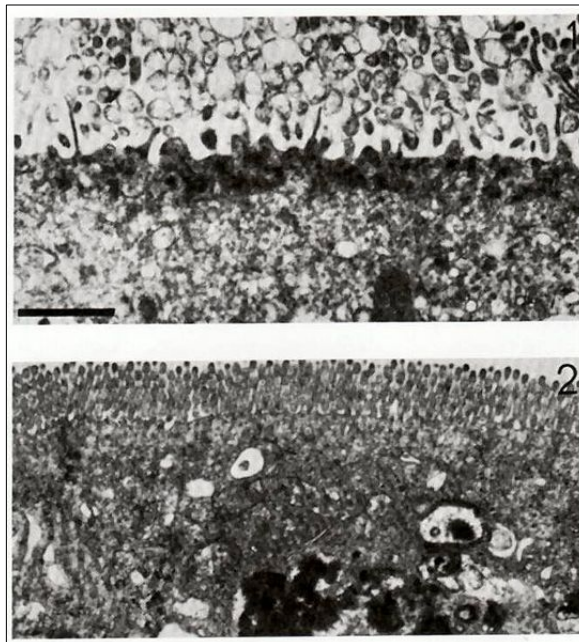
- REOVIRUS che presentano 10 segmenti di RNA.
- ORBIVIRUS che appartengono alla categoria degli ARBOVIRUS e presentano 11 segmenti di RNA.
- ROTAVIRUS che presentano 12 segmenti di RNA.
- COLTIVIRUS che appartengono agli ARBOVIRUS e che presentano 13 segmenti di RNA.

I ROTAVIRUS:

si tratta di AGENTI EZIOLOGICI DI DIVERSI TIPI DI GASTROENTERITE, in particolare:

- possono divenire letali in caso di carenza di acqua e nutrienti come avviene tipicamente NEI PAESI DEL TERZO MONDO.
- danno vita anche nel nostro paese ad infezioni molto diffuse, presentano una elevata contagiosità.

QUESTI VIRUS SI ASSOCIANO ALLA MUCOSA INTESTINALE e in particolare AI VILLI INTESTINALI provocando problemi legati, come per qualsiasi altra gastroenterite, principalmente alla perdita di sali e liquidi.



Enterocita infettato da rotavirus (sopra) a confronto con un enterocita normale: si nota molto bene come nella immagine superiore siano completamente assenti i microvilli caratteristici di questo tipo di cellula.

[immagine tratta da wikipedia](#)

LA DIAGNOSI:

fondamentalmente possiamo dire che si esegue una analisi di questo tipo:

- si ancora al fondo di un pozzetto un ANTICORPO ANTI ROTAVIRUS.
- si pone nel pozzetto ESTRATTO LIQUIDO DI FECI DEL PAZIENTE.
- si inseriscono ulteriori anticorpi specifici contro il virus.
- infine si pone nel campione UNA SERIE DI ANTICORPI ANTI Fc DELLE IMMUNOGLOBULINE UTILIZZATE MARCATI.

in questo modo è possibile determinare se vi sia o meno antigene nel campione fecale.

I VIRUS DELLE FEBBRI EMORRAGICHE

le sindromi da febbri emorragiche sono, come noto, molto numerose; sicuramente il virus patogeno più noto e significativo a riguardo è IL VIRUS DI EBOLA, si tratta di un microorganismo che:

- presenta un genoma a RNA single strand a polarità negativa.
- presenta un capside ELICOIDALE o filamentoso.
- risulta MUNITO DI PERICAPSIDE.
- appartiene alla famiglia delle FILOVIRIDAE, composta di due generi virali: Marburg ed Ebola.
- a livello la famiglia dell'EBOLA può a sua volta essere classificata in tre SOTTOTIPI FONDAMENTALI:
 - SUDAN.
 - ZAIRE.
 - RESTON.

tutti i virus delle FILOVIRIDAE sono molto simili tra loro.

INFEZIONE E MALATTIA:

non è nota esattamente la epidemiologia di questo virus:

sappiamo oggi che EBOLA NON È SEMPRE MORTALE o COMUNQUE HA UNA MORTALITÀ MENO ELEVATA DI QUANTO NON SI CREDESSE fino a qualche anno fa, a tale proposito possiamo ricordare che esistono:

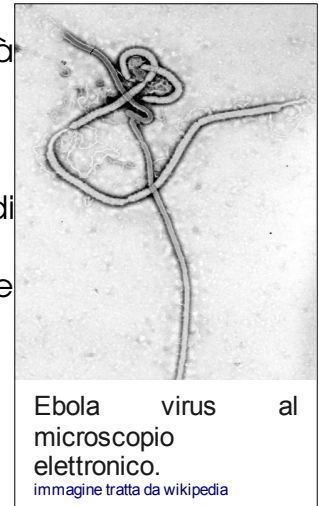
- nella popolazione persone che presentano anticorpi contro il virus e che ne sono state, quindi, inconsapevolmente esposte.
- sono state individuate scimmie portatrici della medesima immunizzazione.

la patologia si sviluppa fondamentalmente in questo modo:

- INFEZIONE PER VIA PARENTERALE, per questo motivo spesso si acquisisce in ambiente nosocomiale.
- DOPO 5-7gg si manifestano i primi sintomi:
 - cefalea.
 - malessere.
 - mialgia.
 - febbre.
 - dolore addominale.
 - diarrea.
 - disidratazione.

sintomi, quindi, relativamente non riconoscibili.

- COMPARE QUINDI UNA ERUZIONE MACULOPAPULOSA.
- si riscontrano i primi sanguinamenti, in particolare:
 - EMATEMESI sangue nel vomito.
 - MELENA sangue digerito nelle feci.
 - SANGUINAMENTI NASALI
 - SANGUINAMENTI VAGINALI
- la perdita di VCE e altri fattori correlati possono portare a SHOCK E MORTE



DEL PAZIENTE.

una delle ultime epidemie riscontrate in ZAIRE infettò 237 persone portandone 211 alla morte.

DIAGNOSI:

come si accennava in precedenza, spesso le scimmie sono portatrici di questa patologia e molti casi scoppiati in città europee e non potrebbero proprio essere legate a questo vettore; per quanto riguarda l'analisi laboratoristica si possono eseguire analisi quali:

- RICERCA DI ANTICORPI tramite:
 - immunofluorescenza.
 - metodi immunoenzimatici.
 - western blotting.
- RICERCA DI ANTIGENI VIRALI NELLE CELLULE DEL PAZIENTE.
- RICERCA DI SEQUENZE GENICHE MEDITANTE PCR.

I PRIONI:

Le malattie di derivazione prionica sono note all'uomo da molto tempo, ma solo da tempo recente si è riusciti ad attribuire tali patologie a tali agenti eziologici: questo è dovuto al fatto che non si tratta di veri e propri agenti patogeni, ma di PROTEINE A POTERE INFETTANTE. PRUSTNER, lo scopritore di tale agente eziologico, vinse il nobel, ma venne per anni preso per pazzo. Ad oggi sappiamo che i prioni sono causa di patologie infettive NEURODEGENERATIVE FATALI NELL'UOMO E IN ALTRI ANIMALI.

PATOLOGIE ASSOCIATE:

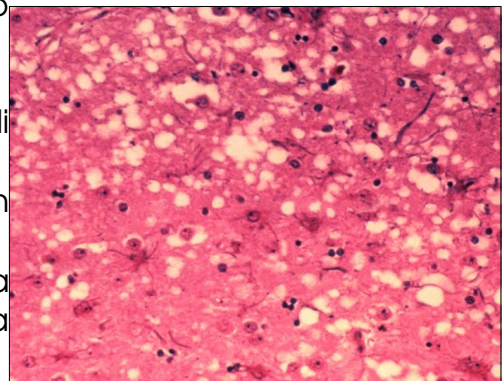
MALATTIE DA TEMPO NOTE E ORA ATTRIBUITE A PRIONI SONO:

- **KURU:** si tratta di una patologia praticamente scomparsa e presente unicamente in Nuova Guinea, si propaga infatti per CANNIBALISMO delle STRUTTURE CEREBRALI¹. Fondamentalmente la patologia si sviluppa in questo modo:
 - comincia con una difficoltà deambulatoria che evolve ad atassia.
 - demenza.
 - morto dopo 4-24 mesi.
- **CREUDTZFELDT JAKOB DISEASE:** si tratta di una patologia che colpisce un individuo su un milione di persone; molto simile alla precedente, provoca un GRADUALE DETERIORAMENTO MENTALE E QUINDI LA MORTE. Fondamentalmente si osservano per questa patologia:
 - atrofia cerebrale con perdita neuronale e intensa glicolisi.
 - componente fibrillare simile a quella osservata nello SCRAPIE, una patologia ovina: sembra che la ELEVATA DIFFUSIONE IN PALESTINA, IN NORD AFRICA E LIBIA sia legata proprio alla usanza di MANGIARE L'OCCHIO DELL'ANIMALE.

la trasmissione è dimostrata a livello clinico per:

- trapianto di cornea.
- impianto di elettrodi elettroencefalografici.
- somministrazione parenterale di growth hormone preparato da cadavere.
- **FATAL FAMILIAR INSOMNIA** che porta alla morte del paziente che non riesce a dormire.
- **GERSTMANN STRAUSSLER SYNDROME:** si tratta di una encefalopatia spongiforme trasmissibile.

sono tutte patologie abbastanza simili. Nel mondo animale sono molto presenti patologie di questo



Lesione causata da encefalopatia spongiforme bovina nel tessuto nervoso del bovino: i piccoli fori rendono il tessuto simile ad una spugna.

[immagine tratta da wikipedia](#)

¹ Per le tribù della Nuova Guinea mangiare il cervello del cadavere significa nutrirsi della sua intelligenza ed acquisirla come propria, si trattava di una pratica molto diffusa.

tipo in particolare:

- visone.
- cervi.
- mucca: in questo caso si tratta di una patologia generata dall'uomo per la somministrazione di MANGIMI A BASE DI CARNE o meglio di scarti elaborati in forma di farina per nutrire le vacche; fondamentalmente il bovino viene reso cannibale e sviluppa un quadro simile al KURU.
- Capra e pecora dove provoca lo SCRAPIE: si tratta di una encefalopatia spongiforme anche in questo caso ma contraddistinta in quanto genera delle lesioni prugineose sulla superficie cutanea dell'ovino.

IL PRIONE:

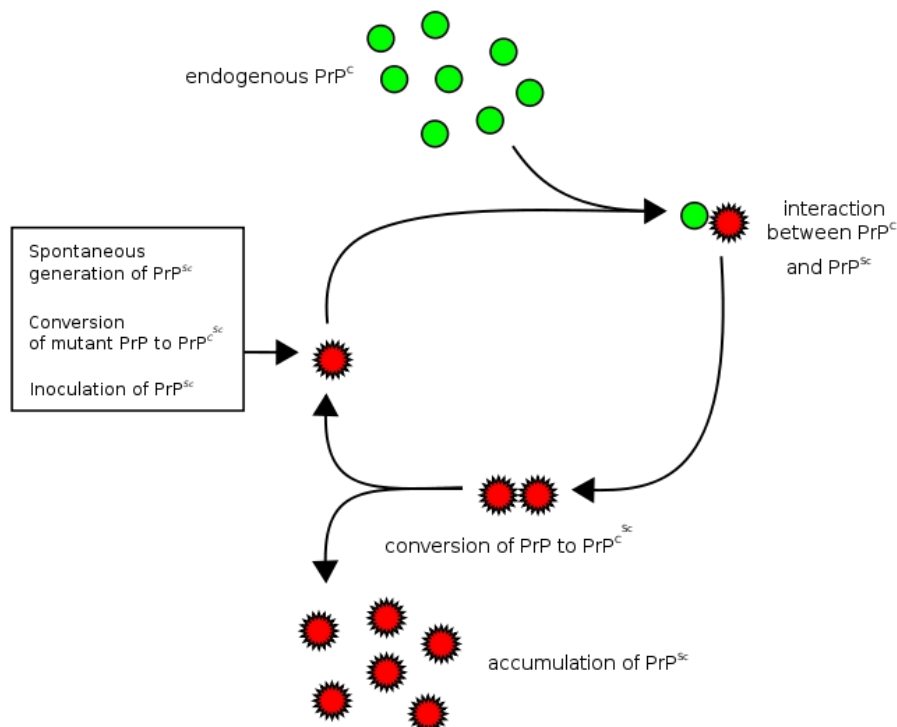
VIENE DETTO ANCHE PRP o PROTEASE RESISTENT PROTEIN: tale proteina viene normalmente espressa nell'uomo e risulta, se alterata, agente eziologico di tali patologie. Non è nota la sua funzione, ma sappiamo che anche a livello murino risulta presente e dallo studio di topi PRP negativi knockout, emerge:

- UNA PERDITA DI PARTE DEL RITMO SONNO VEGLIA.
- UNA PERDITA DI MINIMA PARTE DELLA CAPACITÀ DI APPRENDIMENTO.

In ogni caso il topo non muore, presenta solo piccoli deficit.

LA PROTEINA ANOMALA:

la proteina anomala agisce fondamentalmente INDUCENDO ALTERAZIONI NELLE PRP NORMALI CHE DIVENGONO IDENTICHE ALLA PRP ANOMALA O PRIONICA: questo genera seri problemi soprattutto a livello encefalico.



DIAGNOSI IN LABORATORIO:

Giordano Perin; microbiologia speciale: i prioni

si esegue molto raramente tramite PROCEDURE DI BIOLOGIA MOLECOLARE.



Il materiale pubblicato è posto sotto [licenza creative commons](#)



[Leggi le note legali.](#)

Trovi una raccolta dei miei appunti e molto altro su

www.sonofgreatmatrix.altervista.org

nella sezione "I MIEI APPUNTI".

Tutte le immagini non prodotte da me (e di conseguenza poste sotto la medesima licenza sopra descritta) sono tratte:

- DA WIKIPEDIA e sono quindi poste sotto licenza, nello specifico le licenze possono essere:
 - [Creative Commons Attribution-ShareAlike 3.0 Unported License.](#)
 - [GNU Free Documentation License.](#)

Ogni immagine riporta uno specifico link alla pagina di riferimento su wikipedia dove sono indicate le specifiche licenze.

- DA UNA VECCHIA EDIZIONE DEL GRAY'S ANATOMY del 1918 che ha perso il diritto d'autore, tali immagini sono completamente opensource e le [trovate qui.](#)

Nonostante le mie attenzioni e le attenzioni delle persone che mi aiutano (e che ringrazio) sicuramente possono essere presenti degli errori o delle imprecisioni che vi invito, se possibile, a segnalarmi. Per qualsiasi problema, errori, consigli, informazioni mandami una mail a:

figliodibuonamatrix@gmail.com



Giordano Perin

I miei appunti li trovi anche su:
www.sonofgreatmatrix.altervista.org
Per qualsiasi problema mandami una mail a:
pperin@alice.it
figliodibuonamatrix@gmail.com