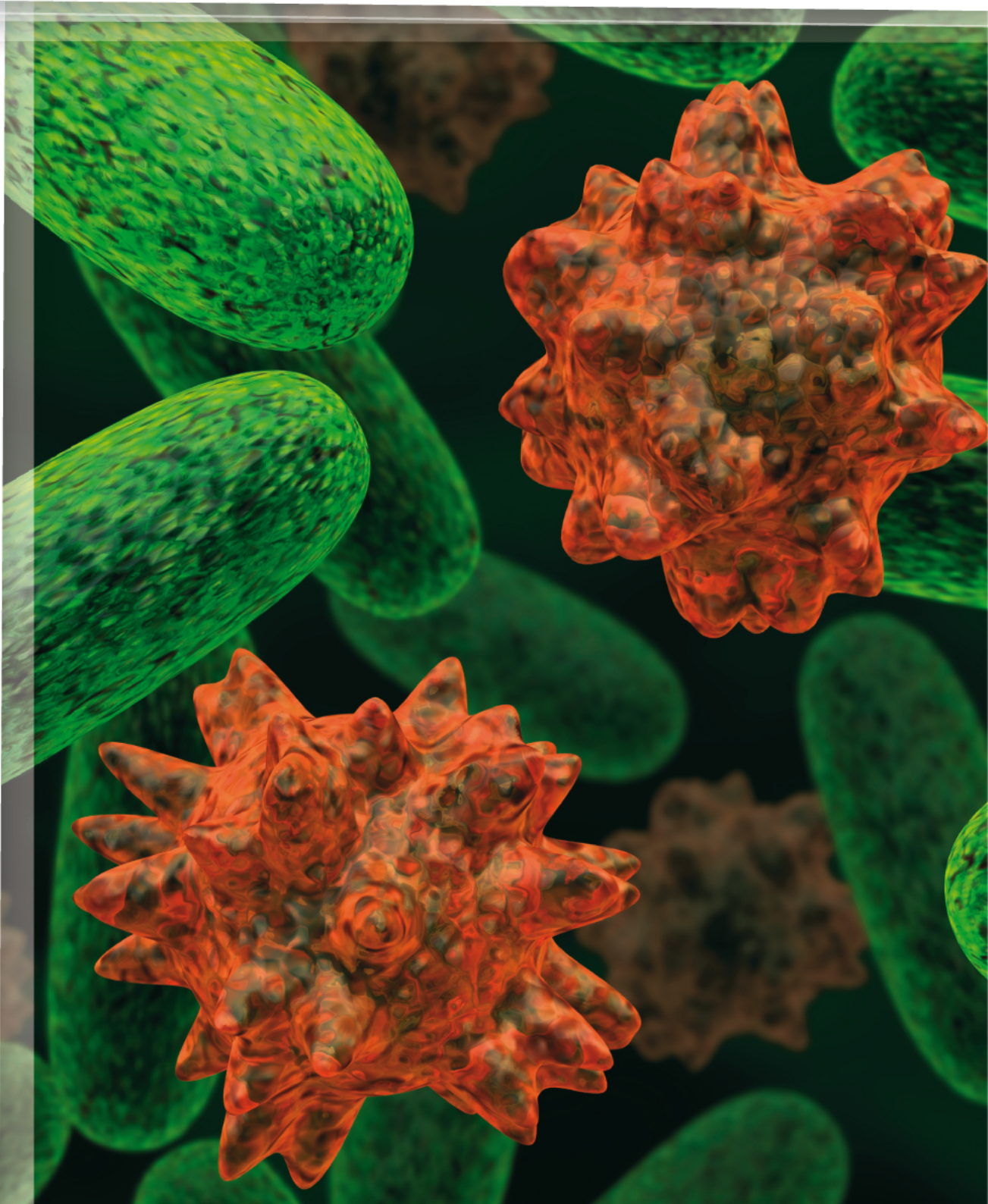


Michele La Placa

XIV edizione

Principi di  
**Microbiologia Medica**



 SOCIETÀ EDITRICE  
**ESCULAPIO**

  
**EdiSES**



# MICHELE LA PLACA

PROFESSORE EMERITO DI MICROBIOLOGIA NELLA SCUOLA  
DI MEDICINA E CHIRURGIA DELL'UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI BOLOGNA

Principi  
di  
**Microbiologia Medica**  
XIV edizione



SOCIETÀ EDITRICE  
**ESCULAPIO**

MICHELE LA PLACA  
PRINCIPI DI MICROBIOLOGIA MEDICA  
Copyright © 2014, EdiSES s.r.l. - Napoli

9 8 7 6 5 4 3 2 1 0  
2018 2017 2016 2015 2014

*Le cifre sulla destra indicano il numero e l'anno dell'ultima ristampa effettuata*

*A norma di legge è vietata la riproduzione, anche parziale, del presente volume o di parte di esso con qualsiasi mezzo.*

*L'Editore*

*L'Editore ha effettuato quanto in suo potere per richiedere il permesso di riproduzione del materiale di cui non è titolare del copyright e resta comunque a disposizione di tutti gli aventi diritto.*

*Illustrazioni a cura di:*

Gianni Bertazzoli  
Lorena Merchione

*Fotocomposizione:*

Vincenzo Scasserra

*Fotoincisione e stampa:*

Tipolitografia Petruzzi & Company snc  
Zona Ind. Regnano – Città di Castello (PG)

*per conto della*

EdiSES s.r.l. – Piazza Dante Alighieri, 89 – Napoli

http: [www.edises.it](http://www.edises.it) E-mail: [edises@edises.it](mailto:edises@edises.it)

ISBN 978 88 7959 810 1



# I collaboratori

---

FRANCESCO BISTONI, professore di Microbiologia, Università di Perugia  
Elisabetta BLASI, professore di Microbiologia, Università di Modena e Reggio Emilia  
Francesco CASTELLI, professore di Malattie Infettive e Tropicali, Università di Brescia  
Luca CECCHERINI NELLI, professore di Microbiologia, Università di Pisa  
Claudio CERMELLI, professore di Microbiologia, Università di Modena e Reggio Emilia  
Roberto CEVENINI, professore di Microbiologia, Università di Bologna  
Stefania CONTI, professore di Microbiologia, Università di Parma  
Marilena GALDIERO, professore di Microbiologia, Seconda Università di Napoli  
Giorgio GALLINELLA, professore di Microbiologia, Università di Bologna  
Anna GIAMMANCO, professore di Microbiologia, Università di Palermo  
Davide GIBELLINI, professore di Microbiologia, Università di Bologna  
Maria Paola LANDINI, professore di Microbiologia, Università di Bologna  
Michelangelo LA PLACA, ricercatore confermato e docente di Dermatologia e Venereologia, Università di Bologna  
Catia LONGHI, ricercatore confermato e docente di Microbiologia, Università di Roma «La Sapienza»  
Alberto MATTEELLI, dirigente medico, divisione di Malattie Infettive, Azienda Ospedaliera Spedali Civili, Brescia  
Rachele G. NEGLIA, professore di Microbiologia, Università di Modena e Reggio Emilia  
Laura PAGANI, professore di Microbiologia, Università di Pavia  
Luciano POLONELLI, professore di Microbiologia, Università di Parma  
Maria Carla RE, professore di Microbiologia, Università di Bologna  
Luigina ROMANI, professore di Microbiologia, Università di Perugia  
Rita ROMANO, ricercatore confermato e docente di Parassitologia, Università di Roma «La Sapienza»  
Vittorio SAMBRI, professore di Microbiologia, Università di Bologna  
Paola SINIBALDI VALLEBONA, professore di Microbiologia, Università di Roma «Tor Vergata»  
Antonio TONIOLO, professore di Microbiologia, Università dell'Insubria, Varese



# Premessa

---

**C**i piace pensare che il consenso che «Principi di Microbiologia Medica» continua a riscuotere presso studenti e docenti, da oltre quaranta anni, nasca dal fatto che si tratta di un libro concepito e scritto, con un organico ed unitario (nonostante i numerosi coautori) progetto, esclusivamente per lo studente che si prepara per diventare Medico (o Farmacista o Biologo sanitario o Biotecnologo farmaceutico).

Questo consenso, ovviamente, ci impone anche impegnative responsabilità ed è per ciò che abbiamo voluto, ancora una volta, rivedere una serie di argomenti, allo scopo di fornire agli studenti dei corsi di Microbiologia un'opera che, mantenendosi sempre al passo con le più moderne impostazioni della ricerca in campo microbiologico, oltre a presentare, in un unico contesto tutto il materiale che è (o dovrebbe essere) previsto nei programmi di studio, fosse il più possibile completa e aggiornata, nel tentativo di venire incontro alle aspettative di quegli studenti (e pensiamo siano ancora la maggioranza) che nell'insegnamento universitario ricercano puntuali risposte alla propria vocazione ad un apprendimento completo, rigoroso e chiaramente finalizzato alla loro preparazione professionale. Il tutto senza modificare significativamente il numero di pagine del volume e cercando di mantenere al testo la consueta maneggevolezza.

Non solo, ma grazie all'entusiasmo ed alla competenza dei dirigenti della Casa Editrice EdiSES cui il volume è affidato a partire da questa edizione, la grafica si presenta profondamente rinnovata e resa più chiara ed accattivante e, soprattutto, il testo oltre che nella forma cartacea sarà reso disponibile anche in forma digitale integrato con una serie di strumenti informatici che lo completano nel contenuto, facilitando, al tempo stesso, il processo di apprendimento.

In questa operazione, ancora una volta è stato essenziale il contributo dei collaboratori, vecchi e nuovi, che hanno accettato di partecipare alla stesura del volume e ad essi va tutta la nostra gratitudine, insieme al merito per quanto il lettore troverà di buono nel volume.

È ovvio che solo a chi scrive queste righe – che, tra l'altro, ha costantemente riguardato e, spesso, profondamente rimaneggiato tutti i diversi contributi, con il fine di rendere unitaria ed armonica la trattazione, lungo il corso dell'intero volume – va imputata la responsabilità delle possibili imprecisioni che i lettori dovessero riscontrare e siamo sin d'ora grati a quanti vorranno darcene segnalazione ([michelelaπλαca@libero.it](mailto:michelelaπλαca@libero.it)).

*Bologna, settembre 2014*  
**Michele La Placa**

# Indice generale

## Premessa

### 1. Introduzione allo studio della microbiologia medica

Generalità sulle malattie da infezione	3
<i>Infezioni endogene ed infezioni esogene, 4; Le vie di trasmissione delle infezioni esogene, 4; Le infezioni esogene: infezione e malattia, 6.</i>	
L'immunità «innata» o «costitutiva» contro le infezioni	8
<i>I fagociti professionali, 10; La fagocitosi ed il «killing» intracellulare degli agenti di infezione, 10; Il complemento, 11.</i>	
Le difese «inducibili» contro le infezioni	14
<i>La risposta immunitaria umorale, 18; La risposta immunitaria cellulo-mediata, 21.</i>	
Il ruolo della risposta immunitaria nelle diverse infezioni	26
<i>Il ruolo della risposta immunitaria nelle infezioni da batteri, 26; Il ruolo della risposta immunitaria nelle infezioni da miceti, 27; Il ruolo della risposta immunitaria nelle infezioni da protozoi, 27; Il ruolo della risposta immunitaria nelle infezioni da virus, 28; Il ruolo della risposta immunitaria nelle infezioni o infestazioni da parassiti metazozi, 28.</i>	
La sopravvivenza degli agenti di infezione alla reazione immunitaria	29
La diagnosi di infezione. Principi generali	31
<i>Ricerca di agenti infettanti nei campioni di materiale patologico, 31; Impiego della «risposta anticorpale» nella diagnosi di infezione, 35.</i>	
I farmaci antimicrobici ed antivirali. Principi generali	35
<i>Immunoterapia nelle malattie da infezione. I «sieri immuni» e le preparazioni di «gamma-globuline», 36.</i>	
Cenni sulle possibilità di prevenzione delle malattie da infezione	38
<i>I vaccini, 38; Le vaccinazioni in Italia, 41.</i>	
L'importanza delle malattie da infezione	43
<i>Infezioni nuove, emergenti e riemergenti, 44.</i>	
L'unione antigene-anticorpo <i>in vitro</i> e le reazioni sierologiche	44
<i>Le reazioni sierologiche, 45.</i>	
Le reazioni sierologiche che impiegano anticorpi (o antigeni) legati ad un «tracciante»	53
<i>Reazione di immunofluorescenza, 54; Reazioni immunoenzimatiche, 54; Immunoblot (Western blot), 56; Metodi</i>	

III	<i>radioimmunologici, 58; Radioimmunoprecipitazione, 58; Gli anticorpi «naturali» e il concetto di specificità antigene dei microrganismi, 58.</i>
-----	--

## PARTE I I BATTERI

2. La cellula batterica	63
Dimensioni, forma e aggruppamento	64
Composizione chimica	65
Colorazione di Gram	66
L'architettura della cellula procariotica	66
<i>Il cromosoma (nucleoide) batterico, 67; Il citoplasma e le inclusioni citoplasmatiche. I ribosomi batterici, 68; La membrana citoplasmatica, 69; Il sacco o parete cellulare, 70; Gli involucri esterni dei batteri Gram-positivi, 72; Gli involucri esterni dei micobatteri, 73; Gli involucri esterni dei batteri Gram-negativi, 74; Strato superficiale «cristallino», 77; Capsula, 77; I flagelli ed il movimento della cellula batterica, 78; Fimbrie (pili), 80; Gli antigeni dei batteri, 80; I pigmenti dei batteri chemiosintetici, 81.</i>	
3. Il metabolismo batterico	82
Le fermentazioni batteriche	84
La respirazione batterica	87
<i>Il ciclo di Krebs, 87; La fosforilazione mediante trasporto di elettroni. Il ruolo dell'ossigeno, 88; La respirazione batterica «anaerobia», 89; Aerobiosi ed anaerobiosi, 90; Le esigenze nutrizionali dei batteri e la sintesi dei «precursori» a basso peso molecolare, 91.</i>	
Le sintesi macromolecolari	91
<i>La replicazione del DNA, 92; La sintesi di RNA e la trascrizione nella cellula batterica, 94; La sintesi delle proteine, 95; Sintesi del peptidoglicano, 96.</i>	
4. La riproduzione batterica e la produzione di spore	101
La riproduzione batterica	102
<i>La fase «L» dei batteri, 102.</i>	
La produzione di spore	103
<i>Ultrastruttura della spora, 103; Caratteri funzionali della spora, 104; Morfogenesi della spora, 104; Fisiologia della sporificazione e significato della spora, 106; La germinazione della spora, 106.</i>	

<b>5. La coltivazione dei batteri</b>	108	<b>12. Introduzione allo studio dei batteri di interesse medico</b>	186
I terreni di coltura	109		
<i>Stato fisico, 109; Composizione chimica, 109; Condizioni di incubazione, 110.</i>			
Lo sviluppo dei batteri in terreni liquidi	110	<b>13. Stafilococchi</b>	189
<i>La curva di crescita di una popolazione batterica, 110; Le colture continue, 111.</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>	190
Lo sviluppo dei batteri in terreni solidi	112	<i>Strutture superficiali e caratteri antigenici, 191; Meccanismo dell'azione patogena, 191; Metodi di identificazione, 193; Reazioni sierologiche, 195; Sensibilità ad antibiotici e chemioterapici, 196; Metodi di immunizzazione, 196.</i>	
Le colture isolanti	112	Stafilococchi coagulasi-negativi	197
<i>Semina per disseminazione in superficie, 113; Semina per diluizione nella massa di un terreno solido, 114; Mezzi selettivi di isolamento, 114; Isolamento in terreni solidi in provetta, 114; Isolamento in terreni liquidi, 115.</i>		Micrococchi	197
Le colture di mantenimento	115	<b>14. Streptococchi ed enterococchi</b>	198
<b>6. Genetica batterica</b>	116	Classificazione	199
La plasticità del genoma batterico (plasmidi, sequenze di inserzione, trasposoni, elementi invertibili, mutazioni)	117	<i>Emolisi, 199; Antigene C, 199.</i>	
<i>I plasmidi, 117; Le sequenze di inserzione, i trasposoni e gli elementi invertibili, 118; Le mutazioni, 120.</i>		<i>Streptococcus pyogenes</i>	200
Il trasferimento intercellulare del materiale genetico	121	<i>Strutture superficiali e caratteri antigenici, 201; Meccanismo dell'azione patogena, 203; Metodi di identificazione, 205; Reazioni sierologiche utilizzabili a scopo diagnostico, 206; Sensibilità ad antibiotici e chemioterapici, 207; Metodi di immunizzazione, 207.</i>	
<i>Trasformazione, 121; Trasduzione, 123; La conversione lisogenica, 124; La coniugazione batterica, 125.</i>		Streptococchi di gruppo B ( <i>Streptococcus agalactiae</i> )	207
<b>7. L'azione patogena dei batteri</b>	127	Streptococchi viridanti	208
Il meccanismo dell'azione patogena dei batteri	129	Enterococchi	208
<i>La moltiplicazione batterica in vivo, 130; La tossigenicità dei batteri, 134.</i>		<b>15. Pneumococchi</b>	210
<b>8. I farmaci antibatterici</b>	150	Strutture superficiali e caratteri antigenici	211
Il meccanismo d'azione dei farmaci antibatterici	151	Meccanismo dell'azione patogena	212
<i>Chemioterapici prodotti per sintesi, 152; Gli antibiotici, 155; Scelta dei farmaci antibatterici, 163; La resistenza ai farmaci antibatterici, 164; I (relativamente) «nuovi» farmaci antibatterici, 167.</i>		Metodi di identificazione	212
<b>9. Disinfezione e sterilizzazione</b>	169	Tipizzazione	213
<b>10. I principi generali per la diagnosi delle malattie causate da batteri</b>	172	Reazioni sierologiche utilizzabili a scopo diagnostico	214
L'esame batteriologico	173	Sensibilità ad antibiotici e chemioterapici	214
<i>Prelievo del materiale da esaminare, 174; Ricerca del batterio patogeno, 174; Interpretazione dei risultati dell'esame batteriologico, 177.</i>		Metodi di immunizzazione	214
La determinazione della sensibilità dei batteri all'azione degli antibiotici e chemioterapici	177	<b>16. Bacillo del carbonchio e <i>Bacillus cereus</i></b>	215
Le ricerche sierologiche	179	<i>Bacillus anthracis</i>	216
<i>Ricerche particolari, 179.</i>		<i>Caratteri antigenici, 216; Meccanismo dell'azione patogena, 216; Metodi di identificazione, 217; Reazioni sierologiche, 217; Sensibilità ad antibiotici e chemioterapici, 217; Metodi di immunizzazione, 218.</i>	
Conclusioni	180	<i>Bacillus cereus</i>	218
<b>11. Il concetto di specie in batteriologia e la classificazione dei batteri</b>	181	<b>17. Corinebatteri e batteri affini di incerta classificazione (<i>Listeria monocytogenes</i>, <i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i> e <i>Gardnerella vaginalis</i>)</b>	220
L'origine della specie e la definizione di specie	182	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	221
Il concetto di specie nei batteri	182	<i>Caratteri antigenici, 222; Meccanismo dell'azione patogena, 222; Metodi di identificazione, 223; Reazioni sierologiche, 225; Sensibilità ad antibiotici e chemioterapici, 225; Metodi di immunizzazione, 225.</i>	
La classificazione dei batteri	183	Altri corinebatteri patogeni per l'uomo	225

<i>Listeria monocytogenes</i>	226	Sensibilità ad antibiotici e chemioterapici	275
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	227	Metodi di immunizzazione	275
<i>Gardnerella vaginalis</i>	227		
<b>18. Micobatteri</b>	229		
La caratteristica tintoriale della acido-resistenza	230		
Terreni di coltura artificiali	230		
I micobatteri di interesse medico	231		
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> , 231; <i>Micobatteri non-tubercolari</i> , 237; <i>Mycobacterium leprae</i> , 238; <i>Mycobacterium ulcerans</i> , 239.			
<b>19. Actinomiceti</b>	240		
<i>Actinomyces israelii</i>	241		
Nocardie	243		
Altri actinomiceti di interesse medico	243		
Streptomiceti	243		
<b>20. Neisserie e batteri correlati (moraxelle e kingelle)</b>	244		
<i>Neisseria meningitidis</i>	245		
Caratteri antigenici, 245; Meccanismo dell'azione patogena, 246; Metodi di identificazione, 246; Sensibilità ad antibiotici e chemioterapici, 248; Metodi di immunizzazione, 248.			
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	248		
Caratteri antigenici e meccanismo dell'azione patogena, 249; Metodi di identificazione, 249; Sensibilità ad antibiotici e chemioterapici, 250.			
Moraxelle	250		
Kingelle	251		
<b>21. Enterobatteri</b>	252		
Caratteri antigenici	257		
Azione patogena	258		
<i>Escherichia</i>	259		
Shigelle	265		
Salmonelle	265		
<i>Edwardsiella</i> , 268.			
<i>Citrobacter</i>	269		
Klebsielle	269		
<i>Enterobacter</i>	269		
<i>Hafnia</i>	269		
<i>Serratia</i>	269		
<i>Proteus</i>	269		
<i>Providencia</i> , 270; <i>Morganella</i> , 270.			
<i>Yersinia</i>	270		
Altri enterobatteri	270		
Metodi di identificazione	270		
Reazioni sierologiche utilizzabili a scopo diagnostico	274		
		<b>22. Vibrioni (e batteri affini: <i>Aeromonas</i> e <i>Plesiomonas</i>), <i>Spirillum</i>, <i>Campylobacter</i> ed <i>Helicobacter</i></b>	276
		Vibrioni	277
		<i>Vibrio cholerae</i> , 277; <i>Vibrio parahaemolyticus</i> , 281.	
		<i>Aeromonas</i> e <i>Plesiomonas</i>	281
		Spirilli	281
		<i>Campylobacter</i>	281
		<i>Helicobacter</i>	283
		<i>Helicobacter pylori</i> , 284.	
		<b>23. Yersinie</b>	288
		<i>Yersinia pestis</i>	289
		<i>Yersinia pseudotuberculosis</i> e <i>Yersinia enterocolitica</i>	291
		<i>Yersinia pseudotuberculosis</i> , 291; <i>Yersinia enterocolitica</i> , 291.	
		<b>24. <i>Francisella tularensis</i></b>	293
		<b>25. Pasteurelle</b>	295
		<b>26. Brucelle</b>	297
		Caratteri antigenici	298
		Meccanismo dell'azione patogena	298
		Metodi di identificazione	298
		Reazioni sierologiche utilizzabili a scopo diagnostico	299
		Sensibilità ad antibiotici e chemioterapici	299
		Metodi di immunizzazione	299
		<b>27. Emofili</b>	300
		<i>Haemophilus influenzae</i>	301
		<i>Haemophilus ducreyi</i>	302
		<i>Haemophilus aegyptius</i>	302
		<b>28. Bordetelle</b>	303
		<i>Bordetella pertussis</i>	304
		<b>29. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e batteri correlati</b>	306
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	307
		Azione patogena, 307; Diagnosi di infezione, 308; Sensibilità ad antibiotici e chemioterapici, 308; Tentativi di profilassi e terapia immunitaria, 308.	
		Batteri correlati	309
		<i>Burkholderia mallei</i> , 309; <i>Burkholderia pseudomallei</i> , 309.	



<b>30. Altri bacilli Gram-negativi non-fermentanti</b>	310
<i>Acinetobacter</i>	311
<i>Alcaligenes</i>	311
<i>Flavobacterium</i>	311
<b>31. Bacilli Gram-negativi di incerta classificazione</b>	312
<i>Calymmatobacterium granulomatis</i>	313
<i>Streptobacillus moniliformis</i>	313
<i>Actinobacillus</i>	313
<i>Capnocytophaga</i>	313
<b>32. Legionelle</b>	315
<i>Legionella pneumophila</i>	316
<b>33. I batteri anaerobi obbligati</b>	318
I clostridi	320
<i>Clostridium tetani</i> , 321; <i>Clostridium botulinum</i> , 322; <i>I clostridi della gangrena gassosa (clostridi istotossici)</i> , 323; <i>I clostridi causa di enteriti</i> , 324.	
<b>34. Le spirochete</b>	326
<i>Treponema pallidum</i> ssp. <i>pallidum</i>	330
La diagnosi batteriologica e sierologica della sifilide. Gli antigeni del <i>Treponema pallidum</i> , 331; Sensibilità ad antibiotici e chemioterapici. Vaccini, 332.	
Borreli	333
Leptospire	334
<b>35. Bartonelle</b>	336
<i>Bartonella bacilliformis</i>	337
<i>Bartonella henselae</i>	338
<i>Bartonella quintana</i>	339
<b>36. Rickettsie</b>	340
Rickettsie di interesse medico e rickettsiosi umane	341
La diagnosi di infezione, 344; Sensibilità ad antibiotici e chemioterapici, 345; Metodi di immunizzazione, 345.	
<b>37. Ehrlichie</b>	346
<b>38. Chlamydie</b>	349
Le infezioni umane da <i>Chlamydia</i>	352
<i>Chlamydia trachomatis</i> , 352; <i>Chlamydia pneumoniae</i> , 353; <i>Chlamydia psittaci</i> , 353; <i>Diagnosi di infezione</i> , 353; <i>Sensibilità ad antibiotici e chemioterapici</i> , 354; <i>Metodi di immunizzazione</i> , 354; <i>Recenti sviluppi della tassonomia e nuove chlamydie potenzialmente patogene per l'uomo</i> , 354.	
<b>39. Micoplasmi</b>	355
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	356
I micoplasmi «genitali»	358
Micoplasmi e AIDS	358

**PARTE II  
I MICETI**

<b>40. Caratteri generali dei miceti</b>	361
Struttura della cellula fungina	362
Morfologia del tallo	362
Metabolismo fungino	365
Modalità di riproduzione e classificazione generale dei miceti	365
<i>Riproduzione sessuale</i> , 365; <i>Accrescimento vegetativo e riproduzione asessuale</i> , 366; <i>Riproduzione asessuale dei lieviti</i> , 369; <i>Sviluppo delle colonie</i> , 370.	
Ecologia dei miceti patogeni e loro distribuzione geografica	371
Patogenesi delle micosi	371
Meccanismo dell'azione patogena	372
Opportunismo fungino	372
Diagnosi delle micosi	373
<i>Ricerca microscopica dei miceti nei materiali patologici</i> , 373; <i>Ricerca microscopica dei miceti nelle sezioni istologiche</i> , 373; <i>Esame culturale</i> , 374; <i>Indagini sierologiche</i> , 375; <i>Ricerca di acidi nucleici o componenti strutturali fungini a scopo diagnostico</i> , 377.	
I farmaci antifungini	377
<b>41. I miceti di interesse medico</b>	381
Collocazione tassonomica	382
Miceti lievitiforimi	382
<i>Malassezia furfur</i> , 382; <i>Trichosporon beigellii</i> e <i>Piedraia hortae</i> , 382; <i>Candida albicans</i> e <i>Candida spp.</i> , 383; <i>Cryptococcus neoformans (Filobasidiella neoformans)</i> , 385.	
Miceti filamentosi (muffe)	386
<i>Dermatofiti</i> , 386; <i>Aspergilli</i> , 390; <i>Agenti eziologici di zigmicosi</i> , 392; <i>Agenti eziologici di micetomi eumicotici</i> , 392; <i>Agenti eziologici di cromoblastomicosi e feofomicosi</i> , 393.	
Miceti dimorfi	395
Miceti patogeni non coltivabili in vitro	400

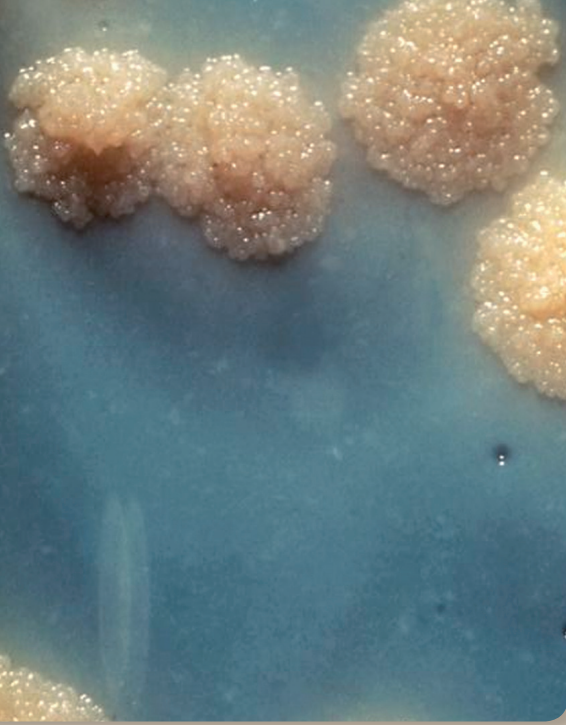
**PARTE III  
I PROTOZOI**

<b>42. Caratteri generali dei protozoi patogeni per l'uomo e delle infezioni protozoarie umane</b>	403
Caratteri morfologici	404
Meccanismo dell'azione patogena	404
<i>Meccanismi di evasione della risposta immunitaria da parte dei protozoi</i> , 405	
I vaccini antiprotozoari	405
La diagnosi delle infezioni da protozoi	406
I farmaci ad azione antiprotozoaria	407

<b>43. I protozoi patogeni per l'uomo</b>	410	<b>46. La moltiplicazione dei virus</b>	481
I flagellati a localizzazione intestinale e genito-urinaria	411	Il ciclo di moltiplicazione virale	482
<i>Giardia intestinalis</i> , 411; <i>Trichomonas vaginalis</i> , 414; <i>Trichomonas tenax</i> e <i>Trichomonas hominis</i> , 416; Altri flagellati intestinali, 416.		Attacco dei virus alla cellula, 483; Penetrazione dei virus nelle cellule ed esposizione (uncoating) dell'acido nucleico virale, 486; Sintesi delle macromolecole virus-specifiche, 487.	
Gli emoflagellati	416	Le strategie replicative dei virus	488
I tripanosomi	418	Deossiribovirus, 489; Ribovirus, 493; Montaggio dei virioni completi e liberazione della progenie virale, 497; La durata del ciclo di replicazione virale, 499; Gli antigeni virus-specifici nel corso del ciclo di replicazione virale, 499; I batteriofagi, 501; Conclusioni sulla moltiplicazione virale, 502.	
<i>Trypanosoma cruzi</i> : la tripanosomiasi americana, 418; <i>Trypanosoma brucei gambiense</i> e <i>Trypanosoma brucei rhodesiense</i> : la tripanosomiasi africana, 419.		<b>47. Genetica dei virus. Interazioni genetiche e non genetiche fra virus diversi</b>	505
Le leishmanie	421	Le mutazioni dei virus	506
L'agente eziologico e il ciclo vitale, 422; Patogenesi e forme cliniche, 423; Diagnosi e terapia, 423.		Interazioni genetiche e non genetiche	506
Le amebe	424	<b>48. La coltivazione e la titolazione dei virus</b>	508
<i>Entamoeba histolytica</i> , 424; Altre amebe intestinali, 427; Le amebe a vita libera, 428; <i>Acanthamoeba</i> , 428; <i>Naegleria</i> , 430; <i>Balamuthia mandrillaris</i> , 431.		Le colture di cellule	509
Gli sporozoi	431	Riconoscimento della moltiplicazione virale nelle colture di cellule	509
<i>I plasmodi</i> , 431; <i>Toxoplasma gondii</i> , 438; <i>Sarcocystis</i> , 442; <i>Cryptosporidium</i> , 443; <i>Isospora (Cystoisospora) belli</i> , 445; <i>Babesia</i> , 445; <i>Pneumocystis carinii (P. jirovecii)</i> , 446.		Impiego di animali da esperimento, 510.	
I ciliati	448	La titolazione dei virus	510
<i>Balantidium coli</i> , 448.		Emoagglutinazione, 512; Conta dei virioni al microscopio elettronico, 512; Altri metodi, 513.	
Microsporidi	449	<b>49. Azione patogena dei virus</b>	514
L'agente eziologico e il ciclo vitale, 450; Patogenesi e forme cliniche, 450; Diagnosi e terapia, 450.		L'infezione	515
<i>Cyclospora</i>	451	Penetrazione, 515; Replicazione, 515; Organi bersaglio, 517.	
L'agente eziologico e il ciclo vitale, 451; Patogenesi e forme cliniche, 451; Diagnosi e terapia, 451.		Le lesioni	517
<i>Blastocystis hominis</i>	452	Lesioni direttamente provocate dal virus, 518; Lesioni dipendenti dal coinvolgimento del sistema immunitario dell'ospite, 520; Il modello sperimentale dell'infezione da virus della coriomeningite linfocitaria nel topo, 520.	
<b>PARTE IV</b>			
<b>I VIRUS</b>			
<b>44. Composizione chimica e struttura dei virus</b>	455	<b>50. Il ruolo dei virus nella oncogenesi</b>	522
Composizione chimica	456	I virus oncogeni	523
Struttura	457	La trasformazione cellulare, 523; Poxvirus, 524; Herpesvirus, 524; Polyomavirus e Papillomavirus, 526; Adenovirus, 530; Hepadnavirus. Il virus della epatite B, 530; Flavivirus. Il virus della epatite C, 531; I Retrovirus oncogeni, 532.	
Caratteri antigenici, 460; Enzimi virus-specifici, 460; Dimensioni, 461; Sensibilità ad agenti fisici e chimici, 461.		<b>51. Le difese antivirali non dipendenti dalla risposta immunitaria: il sistema «interferon» e la interferenza da RNA (RNA interference o RNAi)</b>	533
<b>45. La classificazione dei virus</b>	462	Interferone	534
Deossiribovirus	463	Caratteristiche principali e differenti specie di IFN, 534; Meccanismo d'azione, 535; Applicazioni terapeutiche degli IFN, 538.	
Poxviridae, 463; Herpesviridae, 466; Adenoviridae, 467; Papillomaviridae e Polyomaviridae, 468; Hepadnaviridae, 468; Parvoviridae, 469.		Interferenza da RNA	539
Ribovirus	470	<b>52. I farmaci antivirali</b>	541
Paramyxoviridae, 470; Orthomyxoviridae, 470; Rhabdoviridae, 471; Filoviridae, 471; Arenaviridae, 472; Bunyaviridae, 472; Reoviridae, 473; Retroviridae, 473; Coronaviridae, 475; Togaviridae, 475; Flaviviridae, 476; Caliciviridae, 476; Astroviridae, 476; Picornaviridae, 477.		Farmaci che agiscono sulle fasi precoci delle interazioni virus-cellula	542
<i>Mimivirus</i> : al limite tra virus e batteri	477	Farmaci che agiscono sulla traduzione degli RNA messaggeri virali	543
Virus non classificati	478		
Viroidi e RNA-satelliti (virusoidi)	478		
Virus multicomponenziali	479		

Farmaci che agiscono sulla trascrizione e la replicazione degli acidi nucleici virali	544	<b>60. Paramyxoviridae</b>	590
<i>Analoghi strutturali dei nucleosidi, 544; Acido fosfonofornico, fosfonoacetico e loro derivati, 546; Guanidina e derivati del benzimidazolo, 546.</i>		Virus parainfluenzali	592
Farmaci che agiscono sulle proteasi virus-specifiche	546	Virus della parotite	593
Farmaci che agiscono sull'assemblaggio della progenie virale	547	Virus del morbillo	593
<i>Inibitori della neuraminidasi del virus influenzale, 547.</i>		Virus respiratorio sinciziale	594
La resistenza ai farmaci antivirali	547	<i>Metapneumovirus umano</i>	594
<b>53. Principi generali di diagnostica virologica</b>	548	Metodi di immunizzazione	595
Dimostrazione della presenza di virus nell'organismo	549	<b>61. Rhabdoviridae: il virus della rabbia</b>	596
<i>Prelievo del materiale patologico, 549; Isolamento del virus in colture di cellule e identificazione del virus isolato, 549; Metodi rapidi per la dimostrazione di virus nell'organismo, 550; La quantificazione degli acidi nucleici virali, a scopo diagnostico o di monitoraggio terapeutico, 550.</i>		Il virus della rabbia	597
Dimostrazione di un movimento immunitario specifico	551	<i>Metodi di identificazione, 599; Trattamento, 599.</i>	
<b>54. Poxvirus</b>	552	<b>62. Arenaviridae e Filoviridae</b>	601
Mollusco contagioso	554	<i>Arenavirus</i>	602
<b>55. Herpesvirus</b>	556	<i>Filovirus</i>	603
Virus dell' <i>Herpes simplex</i>	557	<b>63. Bunyaviridae</b>	605
Virus della varicella e dell' <i>Herpes zoster</i>	560	<b>64. Flaviviridae e Togaviridae</b>	609
<i>Citomegalovirus</i>	561	<i>Flaviviridae</i>	610
Il virus di Epstein-barr	563	<i>Flavivirus, 610.</i>	
<i>Herpesvirus umano 6</i>	566	<i>Togaviridae</i>	611
<i>Herpesvirus umano 7</i>	566	<i>Alphavirus, 611; Rubivirus: il virus della rosolia, 611.</i>	
<i>Herpesvirus umano 8</i>	566	<b>65. Coronaviridae, Caliciviridae, Astroviridae, Reoviridae</b>	613
<b>56. Adenovirus</b>	569	<i>Coronaviridae</i>	614
Metodi diagnostici	570	<i>Caliciviridae</i>	615
<b>57. Papillomavirus e Polyomavirus</b>	572	<i>Il gruppo dei virus di Norwalk, 615.</i>	
<i>Papillomavirus umani</i>	573	<i>Astroviridae</i>	616
<i>Polyomavirus umani</i>	576	<i>Reoviridae</i>	616
<b>58. Parvovirus</b>	579	<i>Coltivirus e Orbivirus, 616; Reovirus, 617; Rotavirus, 617; Infezioni da Picobirnavirus nei pazienti con AIDS, 619.</i>	
Il <i>Parvovirus B19</i>	580	<b>66. Picornaviridae</b>	620
Le infezioni da <i>Bocavirus</i> umano	581	<i>Enterovirus</i>	621
<i>Parvovirus 4</i>	581	<i>Patologia umana da Enterovirus, 622; Metodi diagnostici, 624; Metodi di immunizzazione, 624.</i>	
Virus adeno-associati	582	<i>Rhinovirus</i>	625
<b>59. Orthomyxovirus: il virus dell'influenza</b>	583	<b>67. I Retrovirus umani</b>	626
Il virus dell'influenza	584	I virus responsabili dell'AIDS	628
<i>La patologia umana, 585.</i>		<i>Il genoma di HIV, 629; Evoluzione clinica e patogenesi dell'AIDS, 635; La diagnosi di laboratorio, 640; Terapia e controllo dell'AIDS, 641.</i>	
		Il <i>Retrovirus</i> (HTLV-1) associato alla leucemia/linfoma «a cellule T» dell'adulto	642
		<i>Altre patologie associate ad HTLV-1, 643; Epidemiologia dell'infezione da HTLV-1, 644.</i>	
		<b>68. I virus responsabili di epatiti primarie</b>	645
		Il virus della epatite A	646
		Il virus della epatite B	647

Il virus «delta»	651	<b>APPENDICE A</b>	
Il virus della epatite C	652	<b>I parassiti metazoi</b>	671
Il virus della epatite E	654	<b>Artropodi (Ectoparassiti)</b>	697
Epidemiologia delle epatiti virali in Italia	654		
<b>69. I «prioni»</b>	657	<b>APPENDICE B</b>	
Le encefalopatie spongiformi: malattie «genetiche» o malattie «da infezione»?	658	<b>Microbiologia clinica</b>	705
Tutte le encefalopatie spongiformi sono trasmissibili (infettive)	658	<b>APPENDICE C</b>	
Eziologia e patogenesi delle patologie da «prioni»	660	<b>Le biotecnologie mediche e le loro applicazioni</b>	745
Predisposizione genetica alle malattie da «prioni»	664	<b>Indice analitico</b>	757
Il rischio di trasmissione «orizzontale» delle encefalopatie da «prioni»	666		
Diagnosi «eziologica» e terapia	667		



# Capitolo [18]

## Micobatteri

---

### SOMMARIO

---

**La caratteristica tintoriale  
della acido-resistenza**

**Terreni di coltura artificiali**

**I micobatteri di interesse medico**

*Mycobacterium tuberculosis*

Micobatteri non-tubercolari

*Mycobacterium leprae*

*Mycobacterium ulcerans*



I micobatteri sono bacilli lunghi da 2 a 4  $\mu\text{m}$ , molto sottili (con un diametro trasverso di 0,3-0,5  $\mu\text{m}$ ). Alcune specie sono occasionalmente in grado di produrre forme filamentose lunghe fino a 10-15  $\mu\text{m}$ , talora con un abbozzo di ramificazione (da cui, appunto, il nome di micobatteri o batteri fungisimili).

Tutti i micobatteri presentano caratteristici involucri esterni che abbiamo già descritto in precedenza (si veda pag. 72) e che – pur riflettendo, nella generale strutturazione, quelli dei batteri Gram-positivi – sono caratterizzati da una particolare ricchezza in peculiari lipidi (oltre il 40% dei lipidi totali della cellula sono presenti negli involucri esterni) situati all'esterno della parete cellulare.

## [ ► ] LA CARATTERISTICA TINTORIALE DELLA ACIDO-RESISTENZA

La peculiare struttura degli involucri esterni rende le cellule dei micobatteri, anche se uccise (fissate), difficilmente penetrabili dai normali coloranti usati in batteriologia<sup>(1)</sup> che, per raggiungere lo scopo, devono essere usati in soluzioni addizionate di acido fenico, che ne aumenta il potere di penetrazione nella cellula batterica, e fatti agire a temperature elevate (75-80°C).

Una volta colorati, comunque, i micobatteri sono difficilmente decolorabili anche se trattati con solventi molto energici come l'acido cloridrico al 3% in alcool etilico.

Questa caratteristica viene definita «acido-resistenza» e, dal punto di vista tintoriale i micobatteri sono definiti **bacilli acido-resistenti**.

Uno dei metodi più comunemente usati per la colorazione dei micobatteri è il *metodo di colorazione di Ziehl-Neelsen*, il quale consiste nel trattare il preparato per 2-3 minuti, con una soluzione di fucsina addizionata di acido fenico (carbolfucsina) riscaldando il vetrino fino a che la soluzione del colorante emetta dei vapori visibili, lavare con acqua e decolorare per 30-60 secondi con una soluzione di HCl al 3% in alcool etilico, infine eseguire una colorazione di contrasto con blu di metilene. Solo i micobatteri mantengono il colore rosso della fucsina dopo il trattamento mentre tutti gli altri materiali vengono decolorati da tale trattamento e sono ricolorati in blu dalla colorazione del contrasto; i micobatteri sono quindi facilmente apprezzabili come bacilli rossi in campo blu (fig. 18.1).

L'acido-resistenza è dovuta alla formazione di arylmetanomicolati tra la fucsina e gli acidi micolici (si veda in seguito) presenti negli involucri cellulari nonché ai complessi che si formano tra il colorante e varie strutture superficiali o intracellulari del batterio e che ancorano saldamente il colorante impedendone l'asportazione da parte del decolorante (alcool-acido).

Con la colorazione di Ziehl-Neelsen i micobatteri assumono spesso una colorazione discontinua con alternanza, nella stessa cellula, di zone più o meno intensamente colorate.

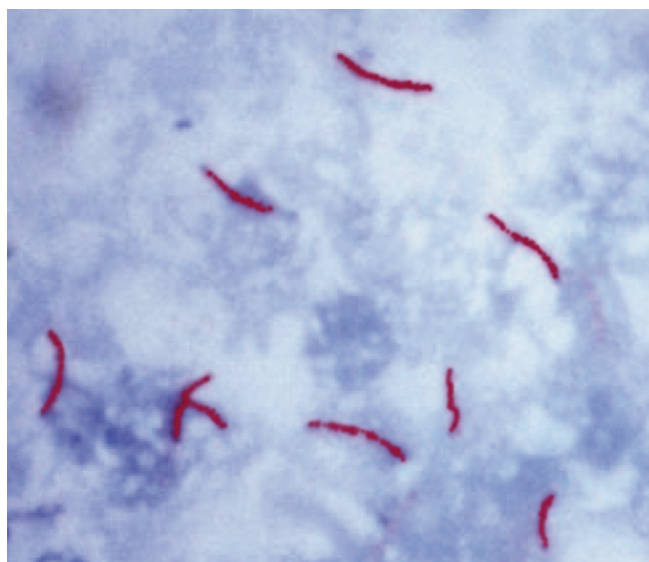


FIGURA 18.1 ► Bacilli alcool-acido resistenti (micobatteri) in un espettorato colorato con il metodo di Ziehl-Neelsen.

## [ ► ] TERRENI DI COLTURA ARTIFICIALI

Come abbiamo già detto, le strutture periferiche dei micobatteri rendono la cellula impervia ad una serie di sostanze potenzialmente dannose, incluse basi o acidi minerali forti (caratteristica che viene sfruttata nei procedimenti di decontaminazione, preliminari ai tentativi di «isolamento» culturale), e conferisce alla cellula stessa un particolare atteggiamento funzionale, caratterizzato da una permeabilità eccezionalmente selettiva e da scambi metabolici con l'ambiente particolarmente «rallentati», cui si fa risalire anche il **ritmo di moltiplicazione** che – pur con alcune eccezioni di cui diremo più avanti – è, di norma, **assai lento** se paragonato a quello della maggior parte degli altri batteri (dal che deriva la «lentezza» di sviluppo della maggior parte dei micobatteri nelle colture artificiali).

Le esigenze nutrizionali dei micobatteri possono essere soddisfatte con numerosi terreni di coltura e la maggior parte di essi è facilmente coltivabile in terreni abiotici (con la notevole eccezione di *Mycobacterium leprae* a tutt'oggi non coltivabile *in vitro*).

I terreni di coltura utilizzabili per la coltivazione dei micobatteri sono di tre tipi. Terreni a base di tuorlo d'uovo (come sorgente di lipidi) e terreni a composizione chimica definita, a loro volta solidificati con agar o liquidi.

I terreni a base di tuorlo d'uovo sono i più utilizzati per l'isolamento primario e sono disponibili in numerose formulazioni (Lowenstein-Jensen, Stonebrink, International Union Against Tuberculosis o IUTM, etc.); essi consistono in genere di una miscela di soluzione tampone e giallo d'uovo, fatta coagulare a «becco di clarino» in provette tenute per qualche tempo a 65-70°C. Questi terreni contengono anche varie concentrazioni di verde di malachite per impedire lo sviluppo di specie microbiche sfuggite ai processi di deconta-

<sup>(1)</sup> I micobatteri non si colorano o si colorano male con il metodo di Gram ed occasionalmente trattengono il colorante violetto (cristalvioioletto) in modo discontinuo, in corrispondenza di granulazioni (accumuli di materiali «di riserva»?) denominate anche «granuli di Much» dal nome dello studioso che le descrisse per primo.



minazione iniziale del prodotto morboso in esame, e l'aggiunta di glicerolo (per favorire lo sviluppo di *M. tuberculosis*) o piruvato (per favorire lo sviluppo di *M. bovis*).

I terreni a composizione chimica definita sono rappresentati da una soluzione tampone di base arricchita di acido oleico (come sorgente di lipidi), albumina bovina, destrosio e catalasi (terreni di Middelbrook, Kirchner, etc.) solidificati con agar o mantenuti allo stato liquido. Alcuni di essi sono stati adattati anche per l'isolamento dei micobatteri da materiali patologici, rendendoli selettivi con l'aggiunta di farmaci antibatterici cui i micobatteri sono insensibili.

Nei terreni liquidi e nel caso di micobatteri virulenti (*M. tuberculosis*) è ben evidente la tendenza a crescere in formazioni cordali formate da numerosi bacilli allineati in lunghe file parallele, che è in funzione delle proprietà idrofobiche della superficie cellulare per l'alto contenuto in lipidi e, in particolare, della presenza di particolari derivati degli acidi micolici (dimicolil-trealosio) denominati appunto «fattore cordale»<sup>(2)</sup>.

Tranne le eccezioni di cui diremo più avanti (*micobatteri a «crescita rapida»*) la maggior parte dei micobatteri di interesse medico ha, come abbiamo già sottolineato, un ritmo di moltiplicazione particolarmente lento, sicché lo sviluppo microbico in una coltura primaria, nella grande maggioranza dei casi, è apprezzabile solo dopo alcune (3-4 in media) settimane di incubazione a 37°C.

Un terreno liquido selettivo, con l'aggiunta di palmitato marcato con carbonio radioattivo (<sup>14</sup>C) – che viene metabolizzato dai micobatteri con liberazione di CO<sub>2</sub> radioattiva – è utilizzato per l'isolamento dei micobatteri da materiali patologici, mediante l'impiego di particolari apparecchiature automatizzate, dotate di strumenti radiometrici di misurazione, con il vantaggio di una relativamente rapida identificazione delle colture in cui è presente lo sviluppo di micobatteri<sup>(3)</sup>.

## [ ► ] I MICOBATTERI DI INTERESSE MEDICO

Diverse specie di micobatteri sono innocui saprofiti che vivono negli strati superficiali del suolo e, occasionalmente, alcune specie si ritrovano nell'organismo umano come innocui commensali (*Mycobacterium smegmatis*, etc.).

<sup>(2)</sup> La crescita dispersa in terreni liquidi di *Mycobacterium tuberculosis* può essere ottenuta in terreni addizionati di particolari sostanze tensioattive come i cosiddetti «tween» (polioossietileni del monooleato di sorbitano).

<sup>(3)</sup> Strumentazioni automatiche di rilevamento dello sviluppo di micobatteri, mediante la identificazione di metaboliti particolari, attraverso indagini spettrometriche o analisi colorimetrica di particolari sensori chimici, sono oggi impiegate più diffusamente, per la maggiore maneggevolezza consentita dalla assenza di materiali radioattivi.

Numerose specie di micobatteri, comunque, interessano la patologia umana e, in alcuni casi, sono agenti eziologici di patologie di grande rilievo.

Sotto questo profilo, il più importante è sicuramente *Mycobacterium tuberculosis*, agente eziologico della tubercolosi umana. Una patologia umana sovrapponibile a quella provocata da *M. tuberculosis* è causata da *Mycobacterium africanum*, isolato frequentemente in Africa, il quale rappresenta probabilmente una variante di *M. tuberculosis*, dal quale differisce per piccole ma significative differenze biochimiche. Infezioni umane possono essere causate anche da *Mycobacterium bovis*, agente eziologico della tubercolosi bovina, trasmissibile all'uomo (zoonosi), in genere per via alimentare (carni o latte non pastorizzato, provenienti da animali infetti).

*M. tuberculosis*, *M. africanum* e *M. bovis* sono molto simili tra di loro e, probabilmente, derivano da un'unica specie originaria e, per questi motivi, sono tassonomicamente riuniti nel cosiddetto *Mycobacterium tuberculosis complex*.

Esistono poi una serie di micobatteri, globalmente definiti *micobatteri non-tubercolari* o MOTT (*mycobacteria other than tuberculosis*), raggruppabili in diversi gruppi o complessi, i quali sono in genere contaminanti ambientali o parassiti di varie specie animali, che sono occasionalmente in grado di infettare la specie umana, richiedendo, però, di norma, la concomitanza di condizioni (immunodepressione, denutrizione, presenza di traumi, etc) favorevoli (*micobatteri «opportunisti»*). Le infezioni causate da alcuni micobatteri non-tubercolari hanno assunto un notevole rilievo clinico ed epidemiologico in questi ultimi anni rappresentando una delle principali patologie e una delle più frequenti cause di morte dei soggetti colpiti dalla sindrome da immunodeficienza acquisita o AIDS (si veda in seguito).

Tra i micobatteri, infine, è normalmente classificato anche *Mycobacterium leprae*, agente eziologico della *lebbra*, che presenta però una sua particolare collocazione clinico-epidemiologica e, come vedremo, peculiari caratteristiche biologiche.

## [ ► ] *Mycobacterium tuberculosis*

*Mycobacterium tuberculosis*, scoperto da Roberto Koch nel 1882 (bacillo di Koch), è l'agente eziologico della *tubercolosi*, una malattia che, dopo avere per secoli imposto all'umanità un pesante tributo, sembrava ormai – in conseguenza di una serie di interventi di igiene generale e di profilassi individuale, e almeno nei Paesi industrializzati – se non debellata, certamente controllata e contenuta, e che, invece, negli ultimi anni, per una serie di concomitanti circostanze di rilievo epidemiologico notevole (intensi flussi migratori, creazione di nuove sacche di povertà anche nei Paesi industrializzati, aumento delle patologie causa di immunodepressione, etc.), deve essere considerata una patologia «riemergente» (si veda anche pag. 44).

## Caratteri antigenici

*Mycobacterium tuberculosis* possiede essenzialmente due classi di antigeni, rispettivamente di natura *polisaccaridica* e di natura *proteica*, con ampie reazioni crociate con analoghi antigeni di altri micobatteri. I lipidi degli involucri esterni e, in particolare, le cere formate dagli acidi micolici legati a glicolipidi fenolici, hanno una potente azione «adiuvante» l'immunogenicità delle porzioni antigeniche polisaccaridiche e proteiche, favorendo il reclutamento di cellule immunocompetenti. La risposta immunitaria cellulo-mediata è centrale sia nella resistenza alla infezione sia nella patogenesi delle lesioni, mentre l'immunità umorale non sembra di rilevante significato protettivo ed offre anche scarse o nulle possibilità di utilizzo ai fini della diagnosi di infezione attiva.

## Meccanismo dell'azione patogena

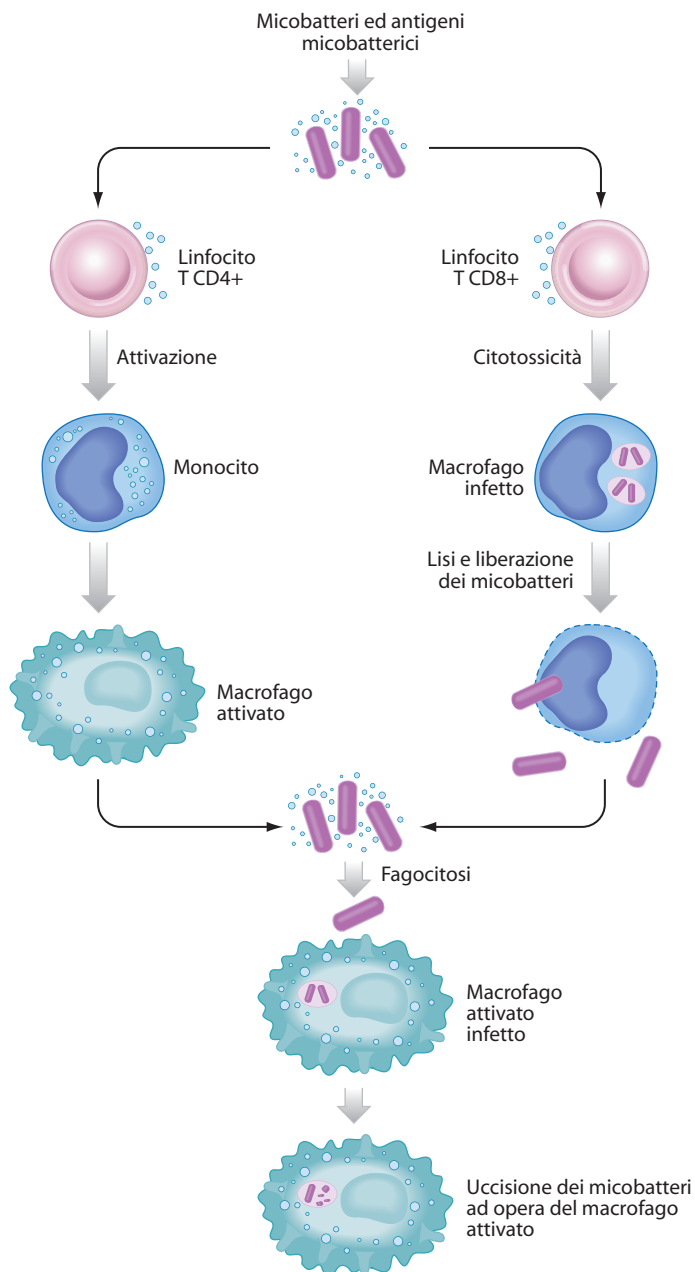
*Mycobacterium tuberculosis* non produce (eso)tossine proteiche *sensu stricto* (anche se è dimostrata la produzione di emolisine e la liberazione extracellulare di lipasi) e non è, ovviamente, provvisto di endotossina (LPS) che è tipica dei batteri Gram-negativi.

Ancorché il meccanismo dell'azione patogena di *M. tuberculosis* sia tutt'ora oggetto di dibattito, non v'ha dubbio che la capacità del batterio di resistere al killing intracellulare nelle cellule fagocitarie è l'elemento centrale del meccanismo della sua azione patogena.

Molti componenti cellulari sono dotati di azione tossica che si estrinseca soprattutto nei confronti dei macrofagi, impedendo la completa uccisione dei micobatteri fagocitati (anche nel caso di macrofagi «attivati»), sia attraverso la inibizione della fusione fagosoma-lisosoma sia attraverso la inibizione della acidificazione del contenuto del fagolisosoma. Un ruolo importante nella tossicità di *M. tuberculosis* nei confronti dei macrofagi sembra sia svolta dal *fattore cordale* cui abbiamo accennato in precedenza.

### PATOGENESI DELL'INFEZIONE TUBERCOLARE

L'infezione da *M. tuberculosis* si contrae di norma per via aerogena. Una volta depositati negli spazi alveolari dei polmoni, si innesca un processo infiammatorio, inizialmente di tipo «essudativo», ovvero con una prevalente componente vascolare, seguito da un intenso accumulo di cellule fagocitarie prevalentemente di tipo macrofagico. I bacilli vengono fagocitati dai macrofagi alveolari e in gran parte uccisi, con la conseguente «presentazione» di diversi materiali antigeni micobatterici ai linfociti TH e l'innescò della risposta immunitaria. Alcuni batteri, però, riescono a sopravvivere ed a moltiplicarsi all'interno dei macrofagi, uccidendoli e liberandosi nell'ambiente extracellulare e danneggiando i tessuti circostanti. La comparsa di macrofagi «attivati», con un aumentato potere micobattericida, e di linfociti CD8 citotossici specifici, in conseguenza della risposta immunitaria cellulo-mediata (fig. 18.2) riesce di norma a contenere l'infezione, con l'attivazione di un caratteristico processo infiammatorio di tipo granulomatoso,

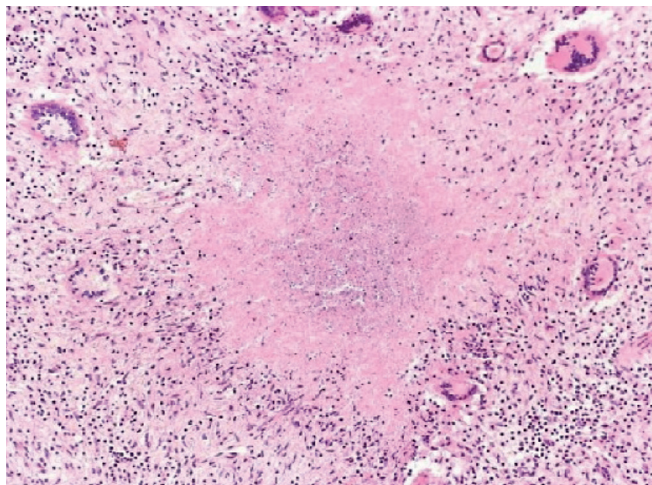


**FIGURA 18.2** ▶ Schema della interazione tra le cellule effettrici della risposta immunitaria cellulo-mediata (macrofagi, linfociti T CD4+, linfociti T CD8+ citotossici) ed i micobatteri.

che istologicamente si manifesta (fig. 18.3) con un denso infiltrato di cellule mononucleari che circonda un insieme di cellule epiteliodi (macrofagi fittamente stipati) e cellule giganti multinucleari (cellule di Langhans). La lesione (denominata «tubercolo»), viene in genere circoscritta da un'intensa reazione connettivale (fibrosi) ad opera di fibroblasti e la porzione centrale, che va incontro a necrosi (necrosi caseosa), è successivamente sede di una intensa precipitazione di sali di calcio.

Nel soggetto resistente, il processo infiammatorio rimane localizzato, coinvolgendo al più alcuni linfonodi mediastinici satelliti, con la formazione di quello che prende il nome di **complesso primario**.

Non sempre però, il «complesso primario» viene completamente e definitivamente «sterilizzato». Al contrario, in una percentuale difficilmente quantifica-



**FIGURA 18.3** ▶ Aspetto istologico di un granuloma tubercolare. Evidente al centro un focolaio di necrosi caseosa circondato da alcune cellule giganti polinucleate.

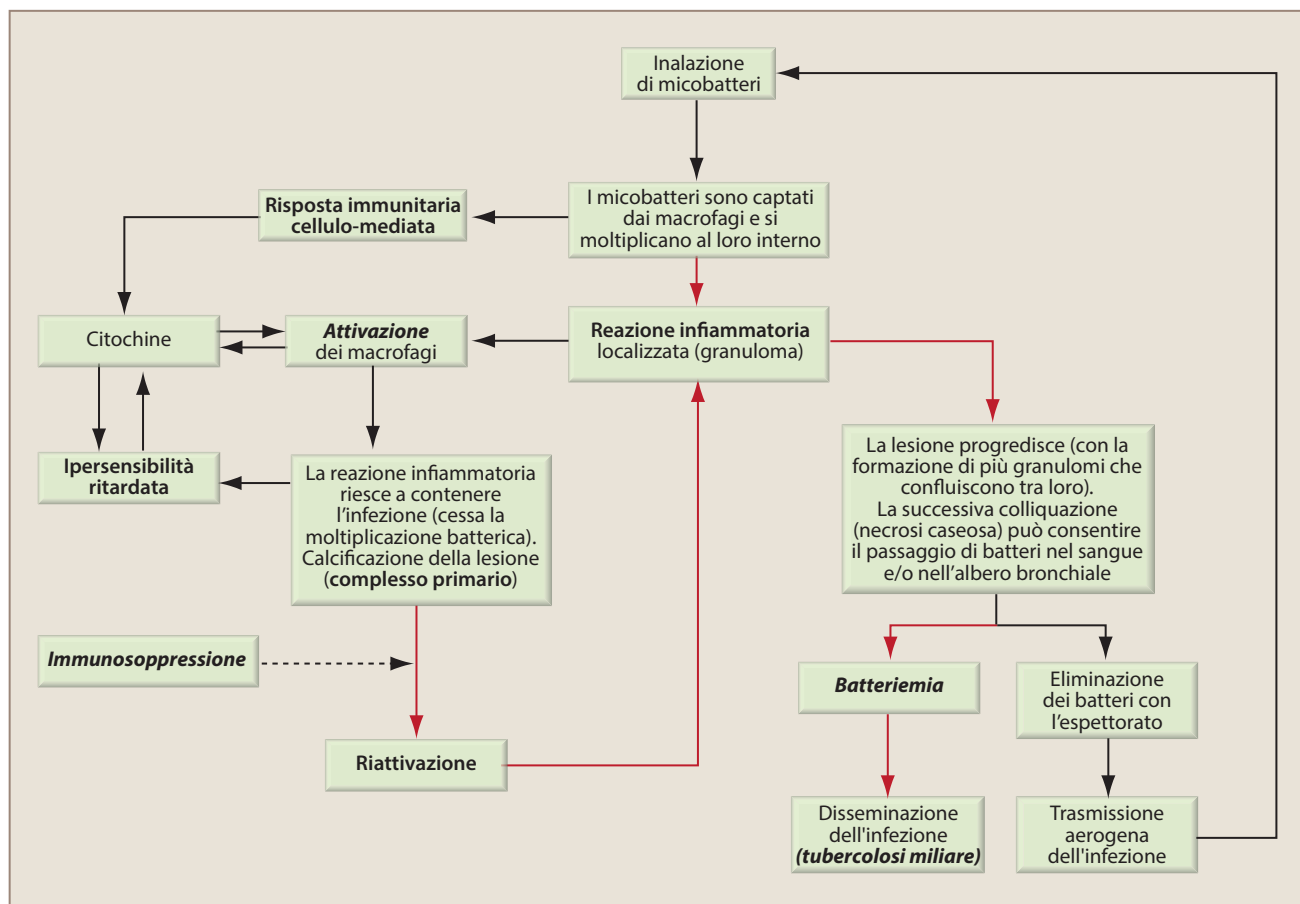
bile, ma certamente consistente dei soggetti, la lesione granulomatosa iniziale, si traduce in un'infezione cronica paucibacillare, assolutamente asintomatica, ma con la persistenza di micobatteri, che possono rimanere vitali per lunghissimi periodi (decenni), anche se scarsamente metabolizzanti o addirittura in una sorta di letargo metabolico. Il persistente contenimento dell'infezione paucibacillare cronica del complesso primario a livello asintomatico, richiede una sorve-

glianza immunologica continua ed il persistere di macrofagi «attivati» e di specifiche cellule linfocitarie CD4 e CD8 di memoria.

Occasionalmente, una diminuita efficienza del sistema immunitario (la infezione da HIV-1 e la conseguente sindrome da immunodeficienza acquisita rappresentano, come vedremo, il maggior fattore di rischio, singolarmente efficace) può portare alla «riattivazione» del complesso primario, con la ripresa della moltiplicazione dei micobatteri, la formazione di lesioni granulomatose multiple che confluiscono e che, in seguito alla necrosi ed alla colliquazione della porzione centrale, possono svuotare il loro contenuto in circolo, con la diffusione metastatica dell'infezione in altre sedi polmonari o extrapolmonari (tubercolosi miliare, tubercolosi meningea, renale, ossea, etc.), o nelle cavità bronchiali con la emissione di espettorato bacillifero in grado di diffondere l'infezione ad altri soggetti (fig. 18.4).

Poiché la grande maggioranza dei soggetti che si infettano con *Mycobacterium tuberculosis* riescono a controllare l'infezione ed a contenerla nel complesso primario asintomatico, è certo che la reazione immunitaria (cellulo-mediata) è assolutamente efficace come risposta difensiva.

La stessa risposta immunitaria, tuttavia, è una lama a doppio taglio. Infatti, sia nei soggetti che presentano un'infezione primaria ad andamento immediatamente evolutivo, sia nei soggetti che presentano un'infezione ad andamento evolutivo in seguito ad una riattiva-



**FIGURA 18.4** ▶ Schema della patogenesi della malattia tubercolare.



zione del complesso primario, gran parte delle lesioni tissutali sono soprattutto dovute alla intensa risposta infiammatoria conseguente alla risposta immunitaria cellulo-mediata. A loro volta, le lesioni si presenteranno con diversa gravità e con maggiore o minore rischio per la sopravvivenza dell'individuo, a seconda dei parenchimi interessati dal processo infettivo<sup>(4)</sup>.

## La diagnosi di infezione

La diagnosi di infezione tubercolare è possibile solo ed esclusivamente mediante la ricerca di *Mycobacterium tuberculosis* in un idoneo campione di materiale patologico.

### RICERCA MICROSCOPICA

Il reperto di bacilli acido-resistenti in un preparato microscopico, opportunamente colorato<sup>(5)</sup> ed osservato al microscopio, rappresenta una prima presumibile evidenza della presenza di *Mycobacterium tuberculosis* in un materiale patologico, in particolare se il materiale in esame è rappresentato da un espettorato<sup>(6)</sup>, dato che nella popolazione batterica normale del cavo orale e delle vie aeree non esistono bacilli acido-resistenti, o se esso è rappresentato da materiale proveniente da una zona dell'organismo normalmente sterile (sedimento di liquor, materiale biotico, etc.). Non è così, invece, nel caso di esame di un sedimento urinario (se trattasi di urina non prelevata mediante cateterismo vescicale) data la possibile contaminazione ad opera

<sup>(4)</sup> Un ulteriore aspetto patologico della risposta immunitaria nell'infezione tubercolare è rappresentato dal possibile coinvolgimento dell'infezione tubercolare (anche contenuta a livello del complesso primario) in una serie di patologie autoimmuni. Gli antigeni micobatterici che rappresentano i principali candidati ad un ruolo centrale in questo tipo di patologie, sono rappresentati dalle cosiddette «proteine da shock» (*heat shock proteins* o HSP) - che i micobatteri producono in notevole quantità in risposta allo «stress» associato alla risposta infiammatoria - nei cui confronti è possibile dimostrare linfociti T «attivati» in varie patologie autoimmuni. Come è noto, le HSP sono proteine, con una struttura altamente conservata e molto simile dai batteri agli organismi pluricellulari, che intervengono nel ripristinare la struttura secondaria e terziaria di proteine vitali (enzimi) in cellule soggette a vari tipi di shock (termico, etc.) con possibili effetti denaturanti, e sono dette anche «proteine chaperon» o «chaperonine»

<sup>(5)</sup> Con il metodo di Ziehl-Neelsen, oppure con il metodo dei fluorocromi che consiste nel colorare il preparato con un colorante fluorescente (miscela di auramina e rodamina), decolorare con alcool addizionato di acido cloridrico, e colorare per contrasto con permanganato di potassio. I preparati colorati con fluorocromi si osservano al microscopio illuminato con luce ultravioletta e consentono un più rapido esame di tutto il preparato, a piccolo ingrandimento, per la facilità con cui i micobatteri, dai quali il fluorocromo non viene asportato dal trattamento con acido (si tratta cioè di una colorazione che mette ancora in evidenza l'acido-resistenza), e che pertanto appaiono intensamente fluorescenti, possono essere identificati sullo sfondo non fluorescente rappresentato dal resto del materiale presente nel preparato.

<sup>(6)</sup> Poiché la tubercolosi è, come abbiamo detto, una affezione principalmente e primitivamente a sede polmonare, il materiale patologico che si esamina più frequentemente è rappresentato dall'espettorato, o dal liquido di lavaggio gastrico (contenente l'espettorato ingerito) nei soggetti dai quali non è possibile ottenere un'abbondante espettorazione.

di micobatteri saprofiti occasionalmente contaminanti il tratto distale dell'apparato genito-urinario (*Mycobacterium smegmatis*).

La certezza diagnostica si raggiunge comunque solo con l'isolamento colturale, che va sempre allestito: sia che l'esame microscopico risulti positivo (e ciò, per controllare che si tratti effettivamente di *M. tuberculosis* e non di altro micobatterio appartenente al *M. tuberculosis complex* o di un micobatterio non-tubercolare, per le ovvie implicazioni terapeutiche e prognostiche), sia che l'esame microscopico risulti negativo (se il sospetto clinico è fondato, la ricerca colturale ha maggiori probabilità di riuscire positiva, in caso di presenza di pochi batteri, per la maggiore quantità di materiale patologico che è possibile insemnare nelle colture, rispetto alla quantità di materiale patologico che è possibile esaminare mediante esame microscopico).

### RICERCA COLTURALE

La ricerca colturale si allestisce di norma inoculando il materiale patologico, adeguatamente emulsionato, sulla superficie di provette contenenti uno dei vari terreni solidi al tuorlo d'uovo e verde di malachite di cui abbiamo detto in precedenza.

A causa del lento sviluppo dei micobatteri in coltura, nel caso il materiale da esaminare provenga da una zona dell'organismo con una autoctona popolazione microbica, esso deve essere preventivamente decontaminato dalla popolazione microbica accessoria, onde evitare che microrganismi a crescita rapida, presenti nel materiale, possano moltiplicarsi nel terreno di coltura esaurendone le disponibilità alimentari e, comunque, mascherando o impedendo la crescita degli eventuali micobatteri presenti.

Ciò si ottiene sfruttando la capacità dei micobatteri di sopravvivere alla esposizione a basi forti (in genere il materiale, rappresentato più frequentemente da un espettorato, viene mescolato con 3-4 volumi di una soluzione contenente N-acetil-cisteina o altre sostanze mucolitiche ed il 23% di NaOH, mantenuto in agitazione a temperatura ambiente per 10 minuti e quindi neutralizzato con HCl) a concentrazioni e per periodi di tempo sufficienti ad uccidere gran parte degli altri microrganismi eventualmente presenti nello stesso materiale. Come abbiamo detto, i terreni di isolamento contengono anche variabili concentrazioni di verde di malachite, assolutamente ben tollerato dai micobatteri, ma in grado di impedire lo sviluppo di microrganismi (ad es.: miceti) sfuggiti al trattamento decontaminante preventivo.

### IDENTIFICAZIONE

Nelle colture incubate a 37°C, lo sviluppo di *M. tuberculosis* comincia ad essere apprezzabile dopo 2-3 settimane (o anche più, nel caso di materiali contenenti solo poche unità micobatteriche). In genere le colonie di *M. tuberculosis* sono facilmente riconoscibili, per l'aspetto rigoglioso (eugonico) con leggera pigmentazione giallastra (fig. 18.5).

L'identificazione definitiva può essere eseguita con metodi convenzionali mediante la rilevazione di alcuni parametri biochimici o biologici, oppure median-



**FIGURA 18.5** ▶ Aspetto di una coltura di *Mycobacterium tuberculosis*, in terreno di isolamento.

te sonde molecolari specifiche per sequenze di DNA esclusive di *M. tuberculosis*.

#### **LA RICERCA DI *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* MEDIANTE «PROVA BIOLOGICA»**

Per l'isolamento dei micobatteri da materiali patologici che non si riesce a decontaminare con il trattamento mediante NaOH (ad esempio per l'abbondanza di miceti) si può ricorrere alla inoculazione del materiale in esame nel sottocutaneo di una cavia che viene a morte in 25-40 giorni con un quadro di tubercolosi generalizzata. È necessario tener presente però che l'impiego della cavia come mezzo per isolare i micobatteri dai microrganismi contaminanti resistenti al trattamento con alcali (che vengono in genere sopraffatti dalle difese antimicrobiche dell'organismo della cavia) non consente di apprezzare una quota di infezioni micobatteriche e precisamente tutte quelle sostenute da micobatteri non-tubercolari poco o punto patogeni per la cavia e si tratta quindi di una pratica da non raccomandare nella routine diagnostica anche se, in passato, con un'endemia tubercolare notevole, ha rappresentato uno strumento diagnostico di estrema utilità.

\* \* \*

Nel loro insieme, le metodiche disponibili per la diagnosi di infezione tubercolare attiva, di cui abbiamo

detto sin qui, soffrono ancora della grave limitazione imposta dai tempi molto lunghi necessari ad ottenere lo sviluppo di *M. tuberculosis* in coltura e, quindi, dai lunghi tempi di attesa necessari per ottenere una risposta valida per impostare un idoneo regime terapeutico ed adeguate misure profilattiche.

È per questo motivo che, oggi, alla ricerca colturale – che, in tutti i casi in cui la natura del materiale patologico lo consenta, viene comunque eseguita in terreni selettivi liquidi e con l'impiego di apparecchiature automatizzate che consentano il monitoraggio dello sviluppo micobatterico attraverso la rilevazione (radiometrica, spettrometrica o tramite sensori chimici particolari) di metaboliti specifici prodotti da idonei precursori aggiunti ai terreni culturali – si aggiunge la ricerca di sequenze specifiche di DNA di *M. tuberculosis* e degli altri micobatteri più frequentemente associati a infezioni umane, mediante tecniche di amplificazione genomica (mediante PCR o metodiche similari).

Con queste tecniche, infatti, è possibile la diagnosi di infezione in tempi assolutamente rapidi (1-2 giorni, contro le 3-4 settimane delle metodiche tradizionali) e tali da consentire l'immediata gestione del paziente ai fini terapeutici e profilattici.

L'isolamento colturale rimane però ancora necessario per poter disporre dello stipite microbico in causa nel processo morboso in atto in un determinato soggetto, per condurne lo studio della sensibilità ai diversi farmaci antimicobatterici, che non è assolutamente prevedibile *a priori*, e poter quindi modulare l'intervento terapeutico nella direzione della migliore efficacia (con il minor numero di effetti collaterali e la minore spesa possibile).

È prevedibile, però, a breve termine, la disponibilità di metodiche di utilizzo abbastanza semplificato per un impiego corrente nella routine di laboratorio, in grado di consentire anche l'identificazione delle modificazioni genotipiche legate alla comparsa di resistenza ai principali farmaci antimicobatterici, in modo da poter impostare, contemporaneamente all'accertamento diagnostico, il regime terapeutico più efficace.

\* \* \*

#### **INDAGINI SIEROLOGICHE**

Nonostante i numerosi tentativi di utilizzare la ricerca di anticorpi nei confronti di antigeni micobatterici allo scopo di diagnosticare un'infezione da *M. tuberculosis* attiva (potenzialmente ad andamento evolutivo), non esistono a tutt'oggi metodiche che diano qualche affidabilità, sotto il profilo della sensibilità e, soprattutto, della specificità dei risultati.

#### **Intradermoreazione con «tubercolina»**

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

La «tubercolina» proposta originariamente da R. Koch per fini terapeutici (e con risultati drammaticamente disastrosi) consisteva in una coltura in terreno liquido di *M. tuberculosis*, sterilizzata in autoclave, concentrata al calore e resa limpida

mediante filtrazione. La «tubercolina» che si impiega oggi è formata da proteine micobatteriche purificate mediante successive precipitazioni con solfato d'ammonio ed è usualmente nota con l'acronimo PPD (*purified protein derivative*). La tubercolina purificata o PPD viene impiegata, secondo la metodica proposta originariamente da Mantoux, per la rilevazione della esistenza di una allergia ritardata specifica. La reazione viene praticata mediante iniezione intradermica di 0,1 ml di una adeguata concentrazione di PPD nella faccia volare dell'avambraccio (o incollando su una zona di cute ricca di ghiandole sebacee un cerotto su cui sia stata fatta essiccare una dose predeterminata di PPD, in modo da consentirne l'assorbimento percutaneo).

Il trattamento non provoca alcuna reazione nei soggetti indenni da infezione tubercolare. Mentre nei soggetti che abbiano subito un'infezione si osserva, localmente e dopo 24-48 ore dal trattamento (allergia ritardata), una reazione infiammatoria che si appalesa con la comparsa di una papula eritematosa che può anche, nelle reazioni molto intense, presentare fenomeni di necrosi ed essere accompagnata da reazioni generali (febbre, malessere).

Poiché l'allergia ritardata, nell'infezione tubercolare, una volta instaurata (da 4 a 6 settimane dopo la prima infezione) si mantiene per tutta la vita, anche quando le lesioni siano guarite, la positività della reazione non sta ad indicare un'affezione attiva ma soltanto un precedente contatto con *M. tuberculosis*. Per ciò la reazione alla tubercolina ha valore diagnostico soltanto quando si osservi il passaggio da una reazione negativa ad una positiva nello stesso soggetto in breve periodo di tempo, per cui essa è, per esempio, molto importante nella infanzia che è l'età in cui più frequentemente si ha il primo contatto con *M. tuberculosis*, e dove un periodico controllo della reattività alla tubercolina consente di stabilire il momento della prima infezione facilitando le opportune misure terapeutiche e profilattiche.

La reazione inoltre ha valore nella selezione del personale (medici, infermieri), per i reparti in cui sono ricoverati gli ammalati di tubercolosi, il quale dovrebbe essere scelto tra i soggetti tubercolino-positivi.

In ogni caso, non va trascurato il fatto che se la positività in senso assoluto non ha valore diagnostico per un'affezione tubercolare in atto, è pur vero che una reazione intensamente positiva si osserva con molto maggiore frequenza nei soggetti con un'affezione attiva che non nei soggetti guariti da tempo.

La reazione alla tubercolina è positiva anche nei soggetti infetti da *M. bovis* e in una buona percentuale di soggetti con infezioni da micobatteri non-tubercolari, nei quali però la risposta è più frequente ed intensa se si utilizzano «tubercoline» preparate, con la stessa tecnica, da colture del micobatterio responsabile dell'affezione.

Le tubercoline dei micobatteri non-tubercolari danno reazioni positive anche in soggetti negativi alla tubercolina del *M. tuberculosis*, per cui presumibilmente le infezioni da tali micobatteri sono più diffuse, a livello subclinico, di quanto si potrebbe sospettare data la loro relativamente minore incidenza nelle forme morbose clinicamente evidenti.

\* \* \*

L'intensa risposta immunitaria indotta dall'infezione tubercolare e la conseguente presenza in circolo di un notevole numero di linfociti TH CD4 specifici nei confronti di diversi antigeni micobatterici è alla base di un test agevolmente eseguibile *in vitro*, introdotto di recente (2005) nella routine diagnostica. Il test si basa sulla produzione di Interferon-gamma (IFN- $\gamma$  - si veda il Cap. 51) da parte dei linfociti TH CD4 «at-

tivati» da antigeni micobatterici. Il test consiste nel mettere in contatto separatamente, per 16-24 ore, precise quantità di sangue intero (eparinizzato, per impedirne la coagulazione) del soggetto in esame, rispettivamente con: **a)** una miscela di peptidi sintetici che rappresentano gli epitopi antigenici più significativi di due proteine presenti in *M. tuberculosis* e precisamente le proteine denominate «early secretory antigenic target-6 (ESAT-6)» e «culture filtrate protein-10 (CFP-10)», **b)** un mitogeno (fitoemoagglutinina) attivo sui linfociti T (controllo positivo) e **c)** soluzione fisiologica al posto degli antigeni micobatterici (controllo negativo) e nel successivo dosaggio quantitativo dell'IFN- $\gamma$  liberatosi nella parte fluida delle miscele, mediante una reazione immunoenzimatica, utilizzando un anticorpo specifico per IFN- $\gamma$ . Il test è considerato positivo se la quantità di IFN- $\gamma$  prodottasi in presenza degli antigeni micobatterici (detratta la quantità di IFN- $\gamma$  «di base» presente nel controllo negativo) è superiore ad un livello predeterminato (0,35 unità internazionali di IFN- $\gamma$ /ml). Il test ha press'a poco lo stesso significato del test intradermico alla tubercolina (PPD), nei cui confronti ha però i vantaggi, oltre che di una più agevole e rapida esecuzione e di una lettura oggettiva del risultato, di essere legato in modo statisticamente più significativo (in caso di positività) ad un'infezione tubercolare attiva e di poter evidenziare più facilmente (in caso di mancata produzione significativa di IFN- $\gamma$  nel controllo positivo) risultati falsamente negativi dovuti a condizioni di anergia del soggetto in esame.

## Sensibilità ad antibiotici e chemioterapici

La prognosi della tubercolosi si è profondamente modificata nella seconda metà del secolo XX, con la disponibilità di alcuni antibiotici (streptomina, rifampicina) e chemioterapici (acido para-amino-salicilico, isoniazide, pirazinamide, etambutolo) efficaci su *M. tuberculosis*.

*Mycobacterium tuberculosis*, tuttavia, presenta facilmente la comparsa di varianti farmaco-resistenti, dal che discende che, da una parte, è difficile predire *a priori* l'efficacia di un farmaco antimicobatterico, senza averne preventivamente saggiato *in vitro* la efficacia nei confronti dello stipite micobatterico che infetta il paziente che si deve trattare, e, dall'altra, è assolutamente da evitare il trattamento di un'infezione tubercolare con un solo farmaco, anche se dimostrato preventivamente efficace *in vitro*, onde evitare la facile selezione di mutanti resistenti.

La multi-terapia dell'infezione tubercolare è infatti oggi codificata a livello internazionale e gli schemi terapeutici più diffusi prevedono una terapia iniziale con isoniazide (300 mg), rifampicina (600 mg), pirazinamide (2000 mg) ed etambutolo (1200 mg), somministrati in associazione, giornalmente e per almeno due mesi, seguita da una terapia di mantenimento con isoniazide (600 mg) e rifampicina (600 mg) tre volte alla settimana per quattro mesi. Recenti sperimentazioni hanno dimostrato una notevole efficacia di *Delamanid* nelle infezioni da stipiti multi-resistenti.

## La profilassi dell'infezione tubercolare

Il vaccino antitubercolare oggi disponibile è costituito da una variante apatogena di *Mycobacterium bovis*,



scoperta (accidentalmente) da Calmette e Guérin nella prima metà del secolo XX e denominata appunto **BCG** (bacillo di Calmette e Guérin). L'inoculazione di BCG (per via intracutanea) si accompagna di norma a modesti segni di reazione locale, con tutt'al più un interessamento transitorio delle linfoghiandole satelliti, ed è seguita dall'instaurarsi di immunità cellulomediata specifica (dimostrabile con la positività alla intradermoreazione di Mantoux).

Nei Paesi industrializzati, la vaccinazione non viene praticata ed il controllo dell'infezione è piuttosto basato sul controllo capillare della comparsa di positività alla tubercolina nella prima età scolare e su un «aggressivo», precoce e protratto trattamento chemioterapico dei casi di prima infezione così evidenziati, in modo da garantire la «sterilizzazione» del complesso primario (si veda anche pag. 41).

Nei Paesi in via di sviluppo, le condizioni sanitarie generali non consentono altro intervento che il trattamento di massa con BCG, sulla cui efficacia protettiva, peraltro, esistono dati molto discordanti che dimostrano come siano importanti fattori ambientali, etc., nella evoluzione della infezione tubercolare.

Attualmente sono allo studio diversi tipi di vaccini antitubercolari, di cui alcuni basati su tecniche di manipolazione genetica, e la recente (1998), completa descrizione della sequenza del genoma di *M. tuberculosis* rappresenta una premessa di grande rilievo in questa prospettiva.

## ► Micobatteri non-tubercolari

I micobatteri non-tubercolari, comprendono numerose specie di micobatteri, significativamente diversi per vari caratteri biochimici, antigenici e, soprattutto, di

patogenicità per la specie umana, dai micobatteri (*M. tuberculosis*, *M. africanum* e *M. bovis*) riuniti nel «*Mycobacterium tuberculosis complex*».

Come abbiamo già detto, si tratta per lo più di contaminanti ambientali o di parassiti di varie specie animali, occasionalmente in grado di infettare l'uomo, generalmente con il concorso di fattori (immunocompromissione, soprattutto) coadiuvanti (batteri opportunisti).

La classificazione dei micobatteri non-tubercolari è in evoluzione, e non ha ancora raggiunto un assetto definitivo, anche per la continua identificazione di «nuove» specie, tra le quali sono presenti anche specie potenzialmente patogene per l'uomo (in particolare per i soggetti affetti da AIDS).

Una relativamente vecchia classificazione, proposta da Runyon, riunisce i micobatteri non-tubercolari in 4 gruppi principali, distinti, rispettivamente, a seconda del ritmo di crescita nelle colture (a **crescita lenta**, simile nei tempi a quella di *M. tuberculosis*, o a **crescita rapida**, con sviluppo completo nelle colture, in meno di 7 giorni) e della produzione (cromogeni) o meno (non cromogeni o scarsamente cromogeni) di un'intensa pigmentazione (giallastra) nelle colture che, a sua volta, si produce solo dopo esposizione ad una forte sorgente luminosa (batteri **fotocromogeni**) o anche in assenza di luce (**scotocromogeni**).

Diversi micobatteri non-tubercolari sono anche riuniti in gruppi o «complessi» sulla base di comunanze biologiche, epidemiologiche e di patogenicità (i «complessi» riuniscono micobatteri che probabilmente sono varianti biochimiche di un'unica specie originaria).

Nella **tab. 18.1** sono indicate le specie di micobatteri non-tubercolari potenzialmente patogene per la specie umana, con la indicazione delle situazioni patologiche indotte con maggiore frequenza e la loro appartenenza ai diversi gruppi di Runyon ed ai «complessi» già ben definiti.

**TABELLA 18.1** ► Principali micobatteri non-tubercolari associati a infezioni umane

Gruppo di Runyon	«Complesso»	Specie	Patologia umana
I – fotocromogeni a crescita lenta		<i>M. marinum</i> <i>M. kansasii</i>	Infezioni cutanee croniche Infezione polmonare cronica
II – scotocromogeni a crescita lenta	<i>M. scrofulaceum complex</i>	<i>M. scrofulaceum</i> <i>M. paratuberculosis</i> (*) <i>M. szulgai</i>	Linfadenite nella prima infanzia Infezione polmonare cronica
III – non cromogeni o debolmente cromogeni a crescita lenta	<i>M. avium complex</i>	<i>M. avium</i> <i>M. intracellulare</i> <i>M. xenopi</i> <i>M. malmoense</i> <i>M. haemophilum</i> <i>M. genevense</i>	Infezioni disseminate particolarmente frequenti in pazienti affetti da AIDS Infezione polmonare cronica Infezione polmonare cronica nell'ospite immunocompromesso (AIDS) Infezioni cutanee e disseminate nell'ospite immunocompromesso. Linfoadenopatia cervicale Infezioni disseminate nell'ospite immunocompromesso (AIDS)
IV – a crescita rapida	<i>M. fortuitum complex</i>	<i>M. fortuitum</i> <i>M. chelonae</i> <i>M. abscessus</i>	Infezioni dei tessuti molli, infezioni disseminate nell'ospite immunocompromesso, otite media, infezione polmonare cronica

(\*) L'infezione umana da *Mycobacterium paratuberculosis* (che, secondo alcuni studiosi, apparterebbe al *M. avium complex*: *M. avium* subspecie *paratuberculosis* o MAP) è stata recentemente indicata come la possibile causa della «malattia di Crohn», una grave infiammazione dell'intestino ad andamento cronico e di eziologia ancora sconosciuta. *M. paratuberculosis* è notoriamente l'agente eziologico della «malattia di Johne» che è un'infiammazione cronica del tratto digerente dei ruminanti, è molto diffuso nell'ambiente e sopravvive ai correnti procedimenti di pastorizzazione del latte (15 secondi a 72°C). Anche se il nesso eziologico con la malattia di Crohn è ancora da provare definitivamente, a livello sanitario internazionale sono in corso una serie di azioni intese ad influire sulle regolamentazioni sanitarie della produzione industriale di cibi, per impedire l'ingresso di *M. paratuberculosis* nella catena alimentare umana.

Le patologie più frequenti da micobatteri non-tubercolari sono quelle da micobatteri appartenenti al *Mycobacterium avium-complex* (MAC). Secondo i dati di studiosi giapponesi, la presenza di anticorpi sierici (in particolare di tipo IgA), dimostrabili mediante un saggio immunoenzimatico, nei confronti di un glicopeptidolipide (GPL) che forma la porzione centrale (*core*) comune ai principali antigeni di superficie dei micobatteri non-tubercolari a crescita lenta, sarebbe indicativa di infezione attiva da MAC e consentirebbe, tra l'altro, la diagnosi differenziale con l'infezione attiva da *Mycobacterium tuberculosis*.

Va comunque tenuto presente che, occasionalmente, anche altri micobatteri, contaminanti ambientali, possono, sebbene con molto minore frequenza, provocare infezioni in soggetti immunocompromessi. Sino a qualche anno fa, alcuni micobatteri come *M. gordonae*, *M. simiae*, *M. shimoidei*, ed *M. celatum* – alcuni dei quali contaminanti delle condotte di acqua negli ospedali (e causa, talora, di erronei reperti di «bacilli acido-resistenti» in preparati microscopici trattati con soluzioni coloranti allestite con acqua corrente) – se repertati in una coltura, sarebbero stati scartati come «contaminanti» di origine ambientale. Oggi, invece, ogni isolamento di un micobatterio non-tubercolare da un materiale patologico deve essere scrupolosamente valutato in rapporto alle condizioni (immunitarie, soprattutto) del paziente ed alla patologia in atto (oltre che in rapporto al rischio che si tratti di una accidentale contaminazione di origine ambientale dei terreni di coltura) prima di deciderne l'eventuale significato clinico.

## Diagnosi di infezione

La diagnosi di infezione da micobatteri non-tubercolari è basata, ovviamente, sull'isolamento colturale dal materiale patologico in esame. Molte volte si tratta di reperti occasionali nelle colture allestite nel corso di procedimenti diagnostici avviati per un sospetto di infezione «tubercolare». Va comunque tenuto presente che alcuni micobatteri non-tubercolari presentano particolari esigenze nutrizionali (*M. genevense*, *M. haemophilum*) o crescono con estrema lentezza (*M. malmoense*) e possono quindi non essere repertati nelle colture allestite per l'isolamento di *M. tuberculosis*, per cui, soprattutto nel caso di pazienti immunocompromessi ed in presenza di un adeguato sospetto clinico, è necessario utilizzare i necessari accorgimenti (impiego di terreni arricchiti, incubazione delle colture per tempi molto lunghi, etc.) in grado di portare alla diagnosi.

L'identificazione di specie si basa sull'analisi del profilo biochimico del micobatterio o, con maggiore rapidità, sull'impiego di sonde molecolari specifiche per il genoma delle singole specie micobatteriche. L'impiego di sonde molecolari insieme alle tecniche di amplificazione (PCR) delle sequenze genomiche bersaglio, è il metodo diagnostico da preferire tutte le volte che sia possibile disporre del necessario equipaggiamento.

## Sensibilità ai farmaci antibatterici

La sensibilità dei micobatteri non-tubercolari ai farmaci antimicobatterici di maggiore impiego (isoniazide, rifampicina, etambutolo, etc.) può variare notevolmente da una specie all'altra e impone, quindi, di norma, lo studio preliminare dello spettro di farmaci attivi *in vitro* nei confronti dei singoli stipti isolati.

In particolare, i micobatteri del *M. avium complex* che sono i micobatteri non-tubercolari di maggior riscontro nei pazienti con AIDS, sono resistenti alla maggior parte dei farmaci attivi nei confronti di *M. tuberculosis* ed il loro trattamento (alcuni stipti sono sensibili a macrolidi, chinolonici e ad alcuni aminoglicosidi come l'amikacina) rappresenta un problema spesso di non facile soluzione.

## [ ▶ ] *Mycobacterium leprae*

*Mycobacterium leprae* (bacillo di Hansen), tradizionalmente classificato nel genere *Mycobacterium*<sup>(7)</sup> è l'agente eziologico della *lebbra*, una malattia ancora molto diffusa in vaste aree del globo (Brasile, India, Congo, Tanzania, Nepal, Mozambico, Madagascar, Angola, Repubblica Centro-Africana) e, stando ai dati recenti della OMS, con poco meno di mezzo milione di nuovi casi all'anno. La patologia è presente anche in Italia con poche centinaia di casi. La lebbra è una malattia cronica a lungo decorso con un lunghissimo periodo di incubazione (fino ad alcuni anni) clinicamente caratterizzata dalla presenza di lesioni granulomatose (istologicamente simili a quelle tubercolari) cutanee o mucose (noduli leprosi o lepromi) che vanno incontro ad ulcerazioni (ma non a caseificazione) provocando spesso mutilazioni deformanti (al volto), e da lesioni che coinvolgono varie terminazioni nervose periferiche con comparsa di vaste aree di anestesia cutanea. Il prevalente tropismo per la cute e le mucose (delle prime vie respiratorie, in particolare) si ritiene legato alla loro temperatura, inferiore a quella dei parenchimi profondi (anche se questi ultimi sono spesso coinvolti dalla patologia).

Dal punto di vista anatomo-clinico, dopo un periodo d'invazione più o meno lungo, che spesso si accompagna a sintomi generali (febbre irregolare, malessere, etc.), la lebbra si può presentare in modo vario ma con una sintomatologia riconducibile a due tipologie essenziali (collegate da un gradiente di forme miste) a seconda della risposta immunitaria del

<sup>(7)</sup> Studi con diverse metodiche hanno tuttavia dato risultati divergenti sulle sue relazioni biologiche e filogenetiche con il resto dei micobatteri. Ad esempio la percentuale di guanina e citosina nelle sequenze di DNA che fiancheggiano alcuni epitopi immunodominanti e l'analisi delle sequenze di RNA ribosomiale, suggeriscono uno stretto rapporto tra *M. leprae* e gli altri micobatteri, mentre lo studio della ibridazione di sequenze oligonucleotidiche dello RNA ribosomiale 16S non ha messo in evidenza rapporti significativi, in accordo con l'assolutamente unico profilo elettroforetico dei frammenti di RNA ribosomiale 16S di *M. leprae*, ottenuti mediante digestione con diversi enzimi di restrizione. Nel peptidoglicano della parete cellulare di *M. leprae*, inoltre, la glicina sostituisce costantemente la lisina presente negli altri micobatteri. In base a questi dati alcuni studiosi suggeriscono che *M. leprae* dovrebbe essere classificato insieme ai membri del genere *Nocardia* (si veda in seguito).

malato. La **lebbra lepromatosa** o tuberosa o nodulare (più contagiosa perché è presente una scarsa risposta immunitaria) è caratterizzata dalla comparsa sulla faccia e sul lato estensorio degli arti, di macchie eritematose/pigmentate che, lentamente, si trasformano in noduli (**lepromi**) isolati, poi confluenti, interessanti spesso anche le mucose, cui fanno seguito ulcerazioni e necrosi con frequenti estese distruzioni di tessuti, mutilazioni, riassorbimento di falangi, caduta dei peli (non dei capelli). Nella **lebbra tubercoloide o nervosa** (in presenza di un'elevata risposta immunitaria, che ne riduce la contagiosità) alle chiazze eritematose seguono formazioni granulomatose, localizzate specialmente lungo i tronchi nervosi cui conseguono disturbi della sensibilità termica, dolorifica e tattile (i più colpiti sono i nervi auricolare, cubitale e peroneo) che qualche volta si localizza nei polmoni con infiltrazioni simili a quelle tubercolari o nell'intestino e può interessare fegato, milza, testicoli ed articolazioni.

L'uomo infetto è il *reservoir* epidemiologicamente più significativo del batterio, anche se *M. leprae* può sopravvivere alcuni giorni nell'ambiente (e costituire un'accidentale fonte di infezione) e se armadilli selvatici (soprattutto l'armadillo a sette fasce o *Dasyus septemcinctus*) infetti da micobatteri indistinguibili dal bacillo di Hansen sono stati repertati in alcuni Stati meridionali degli USA (Arkansas, Louisiana, Mississippi, e Texas) con la possibilità di trasmissione all'uomo (documentata per la prima volta nel 1975) in conseguenza della caccia all'animale, stimolata dalla richiesta di armadilli imbalsamati e di oggetti di pelle di armadillo (secondo alcune osservazioni, anche altri animali come il bufalo indiano ed alcune scimmie - scimpanzè, cercopitechi e macachi - potrebbero risultare naturalmente infetti da *M. leprae*).

La malattia si trasmette soprattutto per contagio interumano e si pensa che la trasmissione per via aerogena (goccioline di Pflugge) sia più rilevante di quella attraverso soluzioni di continuo della cute. *M. leprae* è generalmente localizzato nel citoplasma dei macrofagi, all'interno dei quali si moltiplica, e dove, all'osservazione microscopica, appare in piccoli ammassi di bacilli acido-resistenti disposti parallelamente che, per la forma grossolanamente tozza del batterio, sono detti «a mazzo di sigari». *M. leprae* è un batterio che si moltiplica (obbligatoriamente?) a livello intracellulare e non è coltivabile in terreni abiotici (è possibile, invece, infettare colture di cellule *in vitro*). La trasmissione sperimentale dell'infezione, mediante inoculazione di materiali provenienti da lesioni cutanee o mucose, si può ottenere, oltre che nell'armadillo (che è un animale riscontrato naturalmente infetto e dove si ritiene che l'infezione abbia successo per la temperatura corporea dell'animale relativamente bassa) anche nel topino da laboratorio (*Mus musculus*) inoculato nella zona plantare di una zampa dove si sviluppa una lesione infiammatoria essudativo-granulomatosa, dalla quale l'infezione può essere trasmessa serialmente ad altri topini.

La **diagnosi** di lebbra è in genere clinica, ed è confermata batteriologicamente dal reperto microscopico di bacilli acido-resistenti nel citoplasma dei macrofagi (cellule leprose) presenti nei materiali provenienti dai

granulomi cutanei o mucosi (è importante tener presente che alcuni micobatteri non-tubercolari possono provocare lesioni cutanee grossolanamente simili, per evitare di far diagnosi di lebbra in questi casi). La ricerca di anticorpi (IgM) contro l'antigene glicolipidico PGL1 (*phenolic glycolipid-1*), largamente rappresentato alla superficie di *M. leprae*, può essere di ausilio diagnostico.

La **terapia** della lebbra ha ottenuto in questi ultimi anni notevoli successi con l'introduzione della terapia multipla che prevede la somministrazione giornaliera di 50 mg di clofazimina e 100 mg di dapsona (diamino-difenilsulfone), insieme alla somministrazione mensile di rifampicina (600 mg) e ancora clofazimina (300 mg), per almeno due anni. Il regime terapeutico è in grado di eliminare abbastanza rapidamente i bacilli leprosi dalle lesioni cutanee, eliminando la infettività del paziente e può portare (nelle infezioni trattate a partire da una fase precoce) alla eradicazione dell'infezione in 15-20 mesi.

### [ ▶ ] *Mycobacterium ulcerans*

Si tratta di un micobatterio a crescita lenta isolato nel 1948 nel distretto di Bairnsdale nella zona sud-orientale dell'Australia, da pazienti con ulcere cutanee necrotizzanti (patologia nota anche come *ulcera di Bairnsdale*). Successivamente si capì che l'affezione era identica ad un'analogia patologia nota in Africa già da tempo (anche se ad eziologia ancora ignota) e denominata «*ulcera di Buruli*» da un'area dell'Uganda dove la malattia era particolarmente frequente. La denominazione di «*ulcera di Buruli*» è quella usata oggi correntemente a livello internazionale. L'*ulcera di Buruli* è presente anche in molte aree tropicali e subtropicali, in Africa, Centro e Sud America e Sud-est asiatico, dove l'infezione è particolarmente frequente in prossimità di acque stagnanti (la sorgente dell'infezione non è nota). Le lesioni ulcerose, inizialmente interessanti solo la cute, possono successivamente estendersi lungo la fascia muscolare (fascite necrotizzante), raggiungendo il tessuto muscolare e osseo. Le ulcere sono solitamente indolori (per la distruzione delle terminazioni nervose sensitive) e ciò, può occasionalmente porre il problema della diagnosi differenziale con un'infezione da *Mycobacterium leprae*. La diagnosi si basa sul quadro clinico e sul reperto di bacilli acido-resistenti nell'essudato gelatinoso delle lesioni ulcerose. L'isolamento culturale e la successiva identificazione del micobatterio, mediante indagini biochimiche, sono in grado di risolvere definitivamente il quesito diagnostico.

Il trattamento prevede l'escissione chirurgica del tessuto necrotizzato ed il trattamento combinato con diversi farmaci antimicrobici (isoniazide e streptomina, oppure ossitetraciclina e dapsona, o rifampicina, cotrimossazolo e tetraciline).

Nelle nostre aree non sono segnalati casi di infezione da *M. ulcerans* ma, anche in considerazione del sempre crescente volume di scambi intercontinentali, non è possibile escludere una sua futura comparsa anche in zone precedentemente indenni.



MICHELE LA PLACA  
Principi di  
**Microbiologia Medica**



[www.edises.it](http://www.edises.it)



SOCIETÀ EDITRICE  
**ESCULAPIO**



€ 70,00

ISBN 978-88-7959-810-1



9 788879 598101