

## Appunti di Microbiologia



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



Questa opera è pubblicata sotto una [Licenza Creative Commons](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

## Indice generale

<b>AVVERTENZE</b> .....	<b>5</b>
<b>DIFFERENZE TRA CELLULE EUCARIOTICHE E PROCARIOTICHE</b> .....	<b>6</b>
<b>DISTINZIONE DEI BATTERI</b> .....	<b>7</b>
<b>PARETE BATTERICA O CELLULARE O SACCULO</b> .....	<b>8</b>
<u>IL PEPTIDOGLICANO</u> .....	9
<u>DIFFERENZE TRA Gm+ E Gm-</u> .....	11
<u>MEMBRANA ESTERNA Gm-</u> .....	12
<b>MEMBRANA CITOPLOSMATICA</b> .....	<b>12</b>
<b>FLAGELLI (optional)</b> .....	<b>13</b>
<b>FIMBRIE O PILI (optional)</b> .....	<b>15</b>
<b>CAPSULA (optional)</b> .....	<b>15</b>
<b>DIVISIONE CELLULARE</b> .....	<b>16</b>
<b>TERRENI DI COLTURA</b> .....	<b>17</b>
<b>SPORE</b> .....	<b>18</b>
<u>Struttura della spora</u> .....	19
<u>SPORULAZIONE</u> .....	20
<u>GERMINAZIONE</u> .....	21
<b>GENETICA BATTERICA</b> .....	<b>22</b>
<u>Trasformazione</u> .....	22
<u>Transduzione</u> .....	22
<u>Coniugazione</u> .....	23
<u>LFR</u> .....	24
<b>Replicazione dei virus</b> .....	<b>25</b>
<b>Replicazione virus a DNA</b> .....	<b>25</b>
<b>Replicazione virus a RNA</b> .....	<b>26</b>
<b>Apparato respiratorio</b> .....	<b>28</b>
<b>Apparato digerente</b> .....	<b>29</b>
<b>Apparato urinario</b> .....	<b>29</b>
<b>Meccanismo di infezione da parte dei microrganismi</b> .....	<b>29</b>
<u>Inibizione della produzione dei fagociti</u> .....	32
<u>Endotossina</u> .....	33
<u>Esotossina</u> .....	33
<b>Esame colturale</b> .....	<b>35</b>
<b>Calore umido</b> .....	<b>36</b>
<b>Radiazioni UV</b> .....	<b>36</b>
<b>Filtrazione</b> .....	<b>37</b>
<b>Metodi chimici</b> .....	<b>37</b>
<b>FARMACI ATTIVI SULLA PARETE CELLULARE</b> .....	<b>38</b>
<b>FARMACI ATTIVI SULLA MEMBRANA CELLULARE</b> .....	<b>40</b>
<b>FARMACI CHE AGISCONO SUL DNA</b> .....	<b>41</b>
<u>Analoghi strutturali</u> .....	42
<b>FARMACI CHE INIBISCONO L'RNA</b> .....	<b>43</b>

<b>ANTIBIOGRAMMA</b> .....	<b>44</b>
Metodo della diffusione in agar.....	45
Metodo della diluizione in brodo.....	45
Metodo della diluizione in agar.....	46
<b>STREPTOCOCCHI</b> .....	<b>48</b>
Streptococcus Pyogenes.....	48
Streptococcus Agalatae gruppo B.....	50
Streptococcus pneumoniae o pneumococco.....	50
Enterococco gruppo D.....	50
<b>MICOBATTERI</b> .....	<b>51</b>
MICOBACTERIUM TUBERCULOSIS.....	52
MICOBACTERIUM LEPRAE.....	53
MICOBACTERIUM AVIUM INTRACELLULARE.....	53
<b>ENTEROBATTERI</b> .....	<b>54</b>
SALMONELLA.....	55
SHIGELLA.....	56
<b>GRAM NEGATIVI NON FERMENTANTI</b> .....	<b>57</b>
<b>BACILLI SPORIGENI AEROBI</b> .....	<b>58</b>
BACILLUS ANTRACIS.....	58
BACILLUS CEREUS.....	59
ALTRI BACILLI.....	60
NEISSERIA GONORRHOEAE.....	60
NEISSERIA MENINGITIDIS o meningococco.....	61
<b>SPIROCHETE</b> .....	<b>62</b>
<b>TREPONEMI</b> .....	<b>62</b>
<b>BORRELIA</b> .....	<b>64</b>
<b>LEPTOSPIRE</b> .....	<b>65</b>
<b>CLOSTRIDI</b> .....	<b>65</b>
CLOSTRIDIUM BOTULINUM.....	66
<b>STAFFILOCOCCUS AUREUS</b> .....	<b>67</b>
STAFFILOCOCCUS EPIDERMIDIS.....	69
<b>MICOPLASMI</b> .....	<b>69</b>
MICOPLASMA PNEUMONIAE.....	70
<b>CLAMIDIE</b> .....	<b>70</b>
CLAMIDIA TRACOMATIS.....	70
CLAMIDIE PSITTACEI.....	71
<b>RICKETTSIE</b> .....	<b>71</b>
<b>COXIELLA BURNETTI</b> .....	<b>72</b>
<b>LEGIONELLE</b> .....	<b>72</b>
<b>CORINEBATTERI</b> .....	<b>73</b>
CORINEBACTERIUM DIFTERIAE.....	73
<b>BORDETELLE</b> .....	<b>73</b>
BORDETELLA PERTUSSIS.....	74
<b>VIBRIONI</b> .....	<b>75</b>
<b>BRUCELLE</b> .....	<b>76</b>
<b>LISTERIA</b> .....	<b>77</b>

---

<b>GARDNERELLA VAGINALIS</b> .....	<b>77</b>
<b>EMOFILI</b> .....	<b>78</b>
HAEMOPHILUS INFLUENZAE.....	78
HEAMOPHILUS DUCEYI.....	78
<b>CAMPYLOBACTER</b> .....	<b>79</b>
<b>HELICOBACTER PYLORI</b> .....	<b>79</b>
<b>YERSINIA</b> .....	<b>80</b>
YERSINIA PESTIS.....	80
YERSINA PSEUDOTUBERCOSIS.....	80
YERSINA ENTEROCOLITICA.....	81
<b>HIV (Human Immunodeficiency Virus)</b> .....	<b>82</b>
<b>MYXOVIRUS</b> .....	<b>84</b>
ORTHOMYXOVIRUS.....	84
PARAMYXOVIRIDAE.....	86
<b>PNEUMOVIRINAE - virus respiratorio sinciziale</b> .....	<b>87</b>
<b>POXVIRIDAE</b> .....	<b>87</b>
ORTHOPOXVIRUS: virus del vaiolo umano.....	87
MOLLUSCIPOXVIRUS= virus del mollusco contagioso.....	87
<b>VIRUS DELL'EPATITE</b> .....	<b>88</b>
VIRUS DELL'EPATITE A = HAV.....	88
VIRUS DELL'EPATITE B = HBV.....	88
VIRUS $\delta$ o DELL'EPATITE D.....	89
VIRUS DELL'EPATITE C = HCV.....	90
<b>ADENOVIRUS</b> .....	<b>90</b>
<b>PICORNAVIRIDAE</b> .....	<b>90</b>
<b>ENTEROVIRUS</b> .....	<b>91</b>
<b>ARBOVIRUS</b> .....	<b>92</b>
<b>RHABDOVIRIDAE</b> .....	<b>93</b>
<b>VIRUS DELLA RABBIA</b> .....	<b>93</b>
<b>CORONAVIRIDAE</b> .....	<b>94</b>
<b>HERPESVIRIDAE</b> .....	<b>94</b>
<b>PAPOVIRIDAE</b> .....	<b>96</b>
<b>PAPILLOMAVIRUS</b> .....	<b>96</b>
<b>VIRUS EBOLA</b> .....	<b>97</b>
<b>PARVOVIRIDAE</b> .....	<b>97</b>
<b>I PRIONI</b> .....	<b>98</b>
<b>APPENDICE</b> .....	<b>99</b>

## AVVERTENZE

Questa è una piccola raccolta di appunti di microbiologia scritti in particolare da Matteo Segat.

Questi appunti possono contenere errori e/o informazioni non corrette e/o non aggiornate.

Le informazioni qui contenute non possono essere utilizzate da sole per ottenere una conoscenza sufficiente della materia. Si consiglia di seguire un testo specifico di microbiologia per uno studio approfondito, corretto e aggiornato, oltre le lezioni del professore.

Questi appunti vengono rilasciati sotto la licenza: [Licenza Creative Commons](#).

Potete copiare e distribuire in tutta libertà questa opera purché non venga fatto per scopi commerciali.

Potete modificare quest'opera purché riconosciate la paternità e l'origine all'autore, mi avvisiate delle modifiche avvenute e la pubblicate con la stessa licenza con cui viene rilasciata.

L'immagine in prima pagina del pinguino è l'avatar che spesso uso nei forum in cui scrivo ed è il logo principale del mio sito web([www.marionline.it](http://www.marionline.it)).

L'intero documento è stato modificato con [openoffice](#) 2.3 installato su sistema operativo Linux, distribuzione Fedora 8.

Ringrazio Matteo Segat per aver reso pubblici questi appunti.

Mario Santagiuliana

## INTRODUZIONE ALLA MICROBIOLOGIA

La **microbiologia** è quella scienza che si occupa dei microrganismi, ad esempio i batteri, che nel nostro organismo **causano infezione**. Si ha lo stadio di *infezione* quando un organismo viene aggredito da un batterio, da un virus, un fungo, un protozoo o un prione.

I microrganismi sono di norma *unicellulari*, cioè formati da una sola cellula. Essi possono essere *eucarioti* con nucleo evidente e formano il regno dei *protisti* (protozoi e funghi), oppure *procarioti* con nucleo primitivo appartenenti al regno dei procariote (batteri). I microrganismi hanno possibilità di aggregarsi e da questo si possono avere altri regni, quali: *regno dei funghi*, *regno delle piante* metafite, *regno delle animali* metazoi.

### DIFFERENZE TRA CELLULE EUCARIOTICHE E PROCARIOTICHE

Queste due cellule presentano enormi differenze sia sul piano funzionale, sia sul piano strutturale. Infatti la cellula procariote è una cellula molto semplice e rudimentale, al contrario la cellula eucariote è notevolmente sviluppata e divisa in compartimenti. Ma questo però non vuol dire che la cellula procariote sia più impossibilitata rispetto all'eucariote, anzi svolge funzioni del tutto impossibili per le eucariote. Le **principali differenze** si possono descrivere in uno schema.

PARTI CELLULARI EUCARIOTI		PROCARIOTI
Nucleo distinto con membrana	assente	ben
DNA extr. Nucleare mitocondri		plasmidi
Organelli esistenti		assenti
Membrana citoplas. esistente		Esistente ma complessa

Ribosomi nel RER	70 S nel citoplasma	80 S
---------------------	---------------------	------

## DISTINZIONE DEI BATTERI

A seconda della loro forma, i batteri prendono nomi diversi, distinguendosi in

- cocchi
- bacilli
- coccobacilli
- bacillo fusiforme
- **vibrione** (agente eziologico del colera)
- spirale
- spirocheta

essi si possono raggruppare a catena lineare o a gruppi

## LA CELLULA BATTERICA

Come già visto la cellula batterica appartiene alla classe dei procarioti. Innanzitutto noi distinguiamo i batteri in due classi secondo la loro colorazione, avendo così i **GRAM -** e i **GRAM+**

La differenza del colore sta nella struttura della *parete cellulare*. Il metodo è così suddiviso:

- 1) **colorante primario** (cristalvioletto fenicato) le cellule si colorano di blu-viola
- 2) **mordente** (liquido di Lugol, soluzione Jodo-Jodurata) fissa meglio il colorante
- 3) **differenziatore** (alcol etilico assoluto) solubilizza i fosfolipidi rendendo i **Gm+ blu-viola**, e i **Gm- meno colorati**
- 4) **colorante secondario** (fucsina semplice) questo rende i **Gm+ blu-violetto** e i **Gm- rossi**.

Dopo aver visto come vengono distinte in due categorie le cellule batteriche, passiamo in esame i loro componenti. Di questi alcuni sono fondamentali, altri sono optional.

**Componenti fondamentali:**

- parete cellulare
- membrana citoplasmatica
- citoplasma
- area nucleare
- ribosomi

**componenti optional:**

- capsula
- flagelli
- fimbrie o pili
- inclusioni intracitoplasmatiche.

Le componenti fondamentali ci danno un buono spunto per dove possiamo attaccare il batterio con i farmaci. Quelle optional invece cambiano le caratteristiche della cellula, in alcuni casi addirittura rafforzando il suo effetto dannoso per l'uomo.

## **PARETE BATTERICA O CELLULARE O SACCULO**

La cellula batterica è racchiusa in un contenitore rigido detto sacco o parete cellulare. Nei Gm+ la membrana è circondata da un grosso strato di elettroni apparentemente omogeneo. Nei Gm- l'involucro è circondato da tre strati diversi: una membrana citoplasmatica come nei Gm+, uno strato omogeneo di elettroni più sottile rispetto ai Gm+ e un'altra struttura trilaminare che avvolge tutta la cellula. Il componente fondamentale della parete batterica è il *peptidoglicano*, un enorme polimero formato dalla ripetizione di un'unità strutturale, data dall'alternanza di due carboidrati azotati: NAG (*N-acetil glucosamina*) ed il NAM (*acido N-acetil muramico*). La quantità di parete presente nei Gm+ e nei Gm- è differente. Infatti nei Gm+ all'esterno della membrana citoplasmatica troviamo soltanto un ampio strato di parete cellulare. Nei Gm- invece dopo la membrana citoplasmatica, troviamo un sottile strato di parete e su di essa ci sono altre componenti. Lo scopo della parete batterica è fondamentale in quanto ha duplici funzioni, esse sono:

- conferisce la forma alla cellula batterica

- protegge la cellula da insulti meccanici
- protegge la cellula dalla pressione osmotica
- determina le proprietà tintoriali della cellula
- specie nei Gm- funge da barriera per la farmacoresistenza
- specie nei Gm- svolge importanti funzioni biologiche in corso di infezione.

### **IL PEPTIDOGLICANO**

Come abbiamo detto, questo è il componente fondamentale di tutte le cellule batteriche. Il peptidoglicano è un polisaccaride formato da unità ripetitive di NAG e NAM. Al NAM c'è legata una corta catena di amminoacidi che si legano al NAM della catena adiacente, formando così dei *legami crociati* portando così robustezza alla parete batterica.

Il NAM nasce con 5 amminoacidi, ma quando entra nel muro peptidico ne perde uno. Il legame si forma tra il 4° ed il 3° amminoacido della catena amminoacidica del NAM adiacente. Essi si uniscono mettendo uno il COOH e l'altro NH<sub>2</sub>. In alcuni casi nel mezzo di questo legame si possono trovare altre sostanze quali ad esempio proteine.

Il NAM ed il NAG vengono costruiti nel citoplasma della cellula. Essa utilizza NAG e amminoacidi. Il NAM viene costruito a partire dal NAG. Infatti il NAM differisce dal NAG per un *gruppo lattico*. L'acido lattico nasce dalla riduzione dell'acido piruvico. La cellula utilizza un enzima *fosfoenolpiruviltrasferasi* che prende una molecola di fosfoenolpiruvato, la lega al NAG modificandola in un gruppo lattico, e dopo l'enzima si distacca e se ne va.

### **La fosfomicina** (antibiotico)

Questa è simile al piruvato, e quindi l'enzima non riconoscendola la lega anziché legare piruvato. Questa molecola però una volta che si lega con l'enzima non si stacca più, rendendo così inattivo l'enzima. La cellula non riuscirà più a sintetizzare il NAM e quindi diventerà vulnerabile a causa della mancanza della parete batterica.

Il NAG ed il NAM sono uniti da legami  $\beta$ -1,4 e  $\beta$ -1,6 alternandosi. Dopo di che la cellula deve attaccare i cinque amminoacidi al gruppo lattico del NAM. Adesso il 1°, 2°, 3° amminoacido cambiano da batterio a batterio. Il 4° ed il 5° invece sono sempre uguali formati da *D-alanina*. In natura non esiste la D-alanina ma esiste la L-alanina. Quindi si ha l'intervento di un enzima

*D-alaninasi*. Esso trasforma la forma L in forma D. Questo è il compito di tutte le racemasi. Successivamente l'enzima *D-ala D-ala sintetasi* ha il compito di legare i due amminoacidi di D-alanina e legarli al 3° amminoacido della catena.

**Cicloserina** (antibiotico)

Questa assomiglia alla D-alanina, quindi si lega ai due enzimi racemasi e sintetasi, senza staccarsi più, rendendo così inattivi gli enzimi. Ancora una volta la cellula non può formare la parete rendendosi vulnerabile.

Dopo che all'interno della cellula sono stati sintetizzati il NAG ed il NAM, questi devono essere trasportati all'esterno per costruire la parete batterica. La cellula utilizza per *trasportare tali molecole fuori* un lipide detto *undeca-prenolfosfato* che si lega al D-ala D-ala e trasporta il NAG e il NAM nella parete.

**Vancomicina** (antibiotico)

Questo si lega alla porzione D-ala D-ala inibendo la funzione del lipide, rendendo impossibile il trasporto e quindi la costruzione della parete.

I batteri nel tempo hanno sviluppato una farmacoresistenza nei confronti della vancomicina. Essi hanno sostituito al D-ala D-ala la sequenza D-ala – Lattico. Ancora non esiste un antibiotico per bloccare il trasporto nei batteri che presentano questa sequenza.

Un altro modo per bloccare la sintesi della parete è agendo sull'alimentazione del lipide di trasporto che le è data da un sistema di fosforilazione. Per bloccare tale sistema si usa la

**Bacitrocina** (antibiotico)

Blocca il sistema di fosforilazione

COSTRUZIONE DELLA PARETE

Nella costruzione della parete viene perso l'ultimo amminoacido D-ala, diventando così 4 gli amminoacidi della catena. Per la costruzione della parete si devono formare i legami tra NAG e NAM della stessa catena e tra NAM e NAM di catene adiacente con legami crociati. Questi legami vengono effettuati grazie all'azione di due enzimi la *transpeptidasi* e la *carbossipeptidasi* che rompe il legame con il quinto amminoacido. Questi due enzimi si chiamano anche *PBP (Penicillin Binding Proteins)* che significa proteine che legano la penicillina.

**Penicillina** (antibiotico)

Questa attacca le PBP rendendoli inattivi.

### **Beta-lattamici** (famiglia di antibiotici)

Questi sono derivati della penicillina che agiscono sempre sulle PBP.

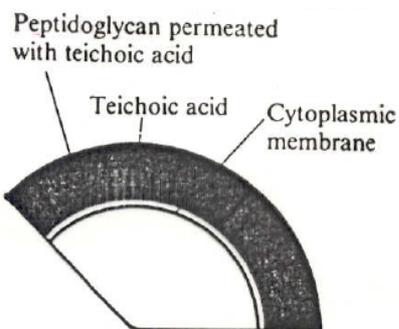
La parte evidenziata rappresenta il sito dei beta-lattamici che si legano con le PBP. PerÙ su quella parte agiscono degli enzimi chiamati **betalattamasi** prodotti dai batteri che distruggono quel sito inattivando così i beta-lattamici.

Nel peptidoglicano sono presenti pure gli *acidi teicoici* che sono polimeri di alcoli polivalenti quali il glicerolo o il ribitolo, esterificati con acido fosforico. Questi rafforzano il peptidoglicano perché si inseriscono in esso. Questi gli danno la particolarità ai batteri di essere adesivi, sono degli optional importanti e rappresentano i recettori per i fagi.

### **DIFFERENZE TRA Gm+ E Gm-**

Come abbiamo visto il peptidoglicano è una parte fondamentale per la cellula batterica. Come abbiamo anche visto i **Gm+** hanno un rivestimento molto semplice, al contrario dei **Gm-** che hanno un rivestimento più complesso.

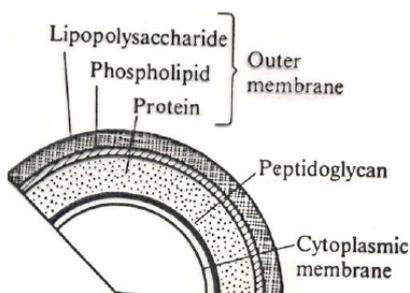
Figura parete Gm+



Come vediamo il suo rivestimento è molto semplice, notiamo dall'interno verso l'esterno

- membrana citoplasmatica
- ampio strato di peptidoglicano

Figura Gm -



come vediamo il suo rivestimento è molto più complesso, e notiamo dall'interno verso l'esterno

- *membrana citoplasmatica* (simmetrica formata da fosfolipidi)
- *spazio periplasmico* (dove i batteri segregano molte sostanze)
- *peptidoglicano* (un sottile strato)

- membrana esterna

quest'ultima è simile alla membrana citoplasmatica, ma è asimmetrica perché è formata da fosfolipidi e LPS (lipopolisaccaride).

### **MEMBRANA ESTERNA Gm-**

La membrana esterna è legata al 3° amminoacido del peptidoglicano mediante le lipoproteine. Queste risultano essere formate da una parte lipidica (in alto) e una parte proteica a forma di solenoide che si lega all'amminoacido. Queste sono *poline* cioè che accelerano o inibiscono l'accesso di molte sostanze.

Nella membrana esterna come abbiamo visto c'è la presenza del LPS (lipopolisaccaride). Esso ha una funzione lipidica e polisaccaridica. Il lipide è situato nella porzione più interna. La parte polisaccaridica è divisa in due parti: una chiamata *core* che è la *parte interna contenuta in tutti gli LPS batterici* e l'*antigene somatico o*, che è la *parte più esterna*. L'antigene è una sostanza che il nostro sistema immunitario riconosce come estraneo al nostro organismo, e una volta riconosciuto cerca di eliminarlo grazie alla produzione di anticorpi specifici per quell'antigene. L'anticorpo è la risposta che il sistema immunitario dà all'antigene. Questa parte del LPS cambia per ogni tipo di batterio, per questo il sistema immunitario deve produrre per ciascun batterio un determinato anticorpo.

L'antigene somatico "o" ha un'importanza biologica ben determinante per il nostro organismo. Esso produce l'*endotossina* che è un veleno o componente del batterio, che provoca nel nostro organismo tre danni biologici. Essi sono:

- agisce come pirogeno, facendo innalzare la temperatura corporea determinando così degli stati febbrili.
- induce una vasodilatazione, con conseguente abbassamento della pressione e nei casi più estremi provocando la morte del paziente con uno shock settico
- attivazione del fattore XII causando così la *CID* (coagulazione intravascolare disseminata) aumentando il rischio di infarto.

### **MEMBRANA CITOPLASMATICA**

Essa racchiude al suo interno il citoplasma, e come le altre membrane biologiche essa è fatta da fosfolipidi e proteine. Fanno eccezione i micoplasmii che non contengono steroli. Il contenuto proteico di questa membrana è elevato. Essa contiene i seguenti fosfolipidi:

- fosfatidil-glicerolo

- fosfatidil-etanolamina
- fosfatidil-serina
- fosfatidil-inositolo
- difosfatidil-glicerolo (cardiolipina)
- fosfatidil-colina (lecitina) [scarsissima]

nei fosfolipidi diversamente dalle cellule eucariotiche gli acidi grassi sono a catene ramificata e non poli insaturi.

Le proteine di membrana sono diverse da quella degli eucariote, in quanto non sono glicosilate. I batteri infatti *non possiedono i sistemi enzimatici che presiedono alla glicosilazione proteica*. Le proteine hanno le seguenti funzioni:

- implicate nella sintesi del peptidoglicano
- implicate nella sintesi del LPS
- implicate nella fosforilazione ossidativi
- implicate nel trasporto di metabolici all'interno della cellula
- implicate nella secrezione di varie sostanze.

La membrana citoplasmatica ha delle invaginazioni che formano i *mesosomi*. Queste sono proprie invaginazioni della membrana al cui interno si riconoscono tubuli, vescicole e lamelle.

Hanno una maggior frequenza nei Gm+, e nei Gm- hanno una struttura piú semplice. Essi hanno diverse funzioni quali:

- per alcuni versi funzioni che negli eucarioti svolgerebbero i mitocondri
- fungono da punto d'ancoraggio dell'acido nucleico nella divisione cellulare.
- Regolano la secrezione di esoenzimi, tossine, polimeri etc.
- Sede dei processi di fosforilazione ossidativa
- Aumentano la superficie della membrana citoplasmatica e quindi del suo contenuto enzimatico.

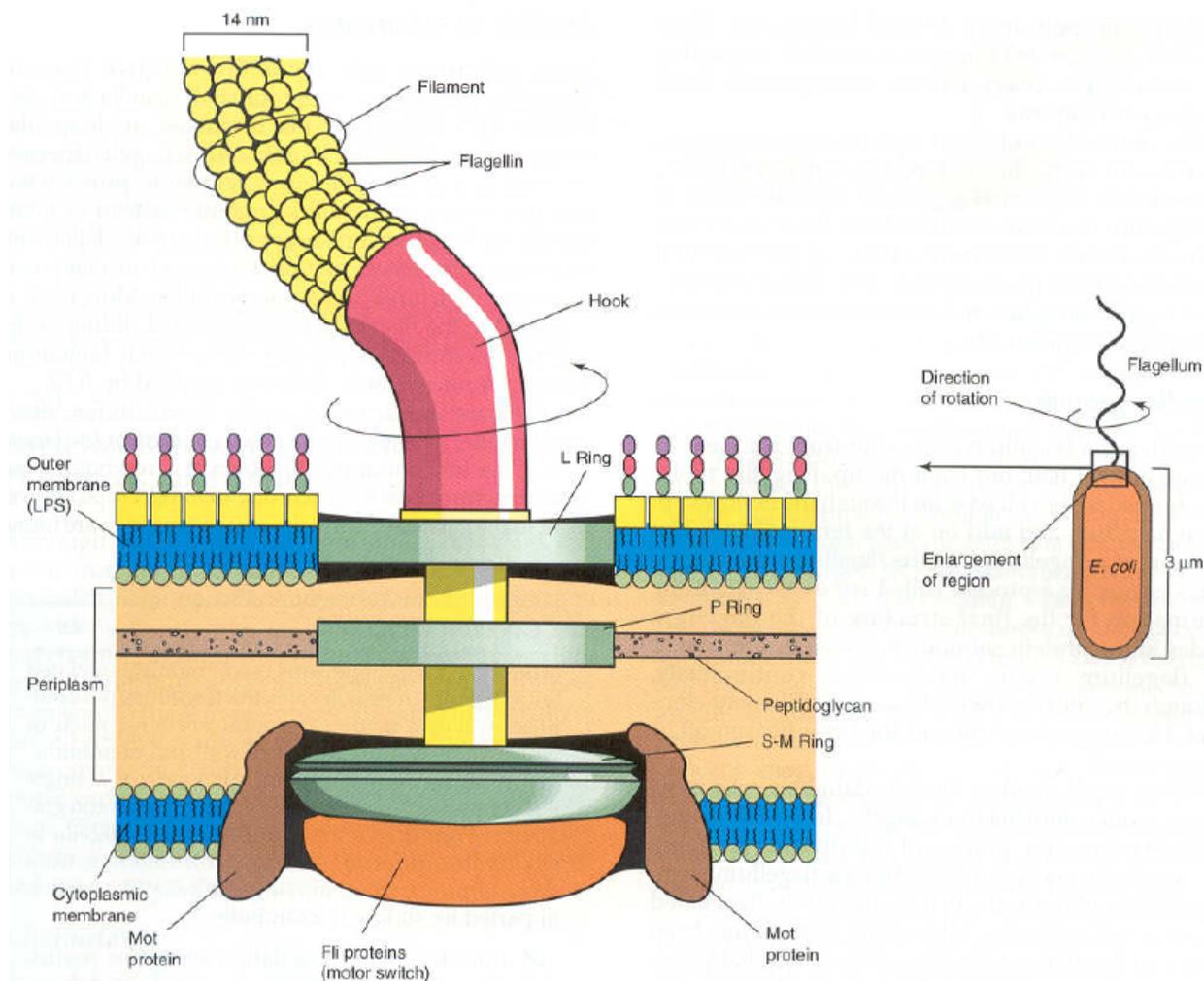
### **FLAGELLI (optional)**

Questi sono organi di moto. Questi sono estroflessioni che escono dalla cellula, composti da *proteine*. Essi sono distribuiti sulla superficie della cellula, in vario modo, a tal punto che le cellule si classificano in :

- *batteri peritrichi* molti flagelli distribuiti su tutta la superficie della cellula
- *batteri monotrichi* un solo flagello ad un polo
- *batteri lofotrichi* due flagelli distribuiti ai due poli della cellula

essi causano il movimento della cellula a causa del movimento rotatorio attorno ad un punto di inserzione.

Inserisci figura flagello



Gli anelli che pinzano la membrana citoplasmatica sono 4 nei Gm- e 2 nei Gm+.

Il batterio si muove per gradiente di concentrazione con un movimento chiamato *Chemiotassi*. Essa è il movimento di sostanze chimiche con proprietà attrattive o repulsive. » sia un mezzo di sopravvivenza (la fa allontanare da sostanze a lei tossiche) sia un mezzo per l'accrescimento (ricerca di sostanze nutritive). Il movimento è dato dalla rotazione dei flagelli, che si muovono nella stessa direzione tutti contemporaneamente. Il movimento è dato in due modi:

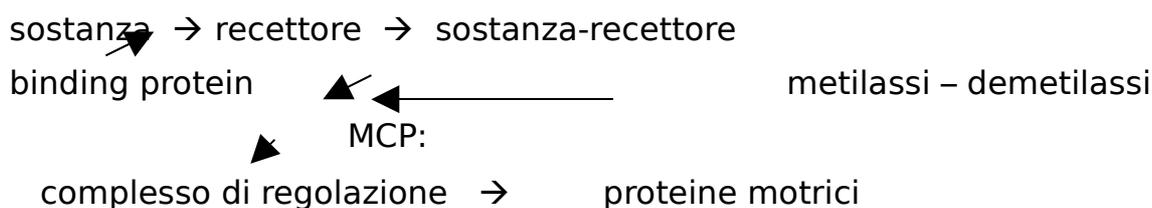
- Antiorario: consente un movimento vettoriale, verso la direzione che vuole raggiungere
- Orario: movimento disordinato e inefficace che fa girare il batterio su se stesso, per ristabilire la concentrazione che esso vuole raggiungere.

I flagelli alternano periodi di rotazione in senso antiorario ed orario.

Nella chemiotassi sono implicati circa 30 geni. Distinti in :

- Fla genes = codificano la sintesi di proteine che costituiscono i corpi basali e la flagellina
- Che genes = generano e conducono il segnale
- Mot genes = fanno muovere i flagelli

Il processo segue le seguenti tappe:



non è ancora chiaro come arrivi il segnale dal recettore al motore

inserisci figura processo

### **FIMBRIE O PILI (optional)**

Questi sono protezioni "hairlike" di natura proteica presenti sulla superficie di molti batteri.

I pili si distinguono in comuni o sessuali.

- *pili comuni* molto più sottili e corti rispetto ai flagelli, sono organi di adesione e sono moltissimi per cellula.
- *Pili sessuali* queste sono proprie delle cellule maschio, e sono uno solo per cellula. Essi possono trasferire informazioni attraverso il passaggio di geni da una cellula all'altra.

### **CAPSULA (optional)**

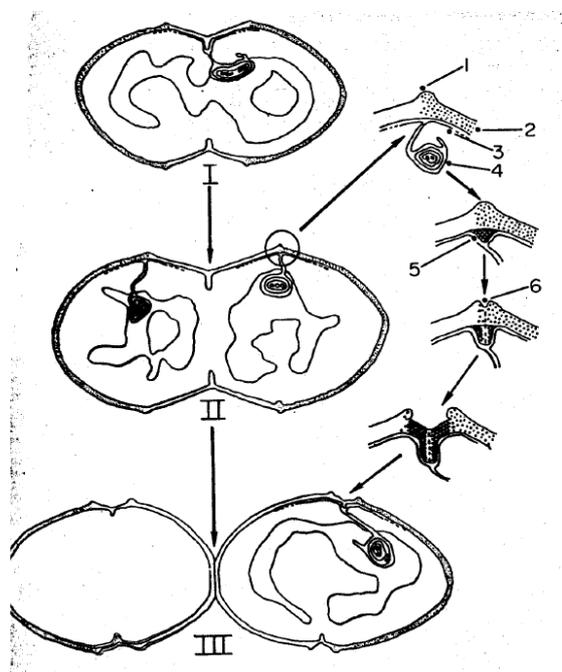
Questa è la componente più esterna, è una sorta di gelatina formata da polisaccaridi e polipeptidi. I batteri che la posseggono sono molto virulenti e resistenti al sistema immunitario, perché i fagociti non riescono a fagocitarli. Essa non è facilmente colorabile, e si usa l'inchiostro di china, dopo di che si vede una struttura bianca (capsula) immersa da campo scuro.

## DIVISIONE CELLULARE

La divisione cellulare nei batteri è un processo asessuale di *fissione binaria*. Il processo si può suddividere in tappe. Esse sono:

- 1) il DNA si lega al mesosoma
- 2) il DNA si duplica in due parti contenenti la stessa informazione genetica
- 3) il mesosoma si divide, migrando ai poli ognuno con una copia di DNA
- 4) inizia la sintesi della parete, nella parte alta della cellula, mentre la membrana citoplasmatica si invagina per dividere le due cellule.

Inserisci schema



Adesso c'è da fare una distinzione tra la sintesi delle pareti batteriche a secondo della forma della cellula. Perché per i *cocchi*, si ha la *sintesi in un solo punto della parete batterica*, nella parte alta. Invece per i batteri a forma di *bastoncino*, la *sintesi avviene in più parti*, proprio per garantire la forma bastoncellare, altrimenti se fosse come per i *cocchi*, i bastoncini diventerebbero *cocchi*.

Inserisci forme di divisione

### *Mecillinam* (antibiotico)

Questo antibiotico blocca le PBP 2 che fanno avvenire nei cocci la sintesi di parete in altre parti non centrale. Così facendo i batteri di forma bastoncellare si trasformerebbero in cocci, perdendo le funzioni che avevano prima.

Una cellula per dividersi e per svolgere il suo metabolismo deve nutrirsi.

## TERRENI DI COLTURA

I terreni di coltura sono dei substrati contenenti tutte le sostanze nutritive quali, fonti di carbonio, fonti di azoto, ioni inorganici, fattori di crescita e acqua indispensabili per la vita e la moltiplicazione delle cellule batteriche. Una volta si usava il brodo. Ma questa proprio perché liquido ci dava poche informazioni, in quanto i batteri si mischiavano. I terreni solidi hanno la stessa composizione dei terreni liquidi, in più si ha il solidificante che è l'*agar*. Nei terreni solidi, il vantaggio è che dove viene messa una cellula, essa si moltiplica formando una colonia che rimane ferma in quel punto, e quindi sarà di facile osservazione. » importante avere le colonie, perché così si avranno caratteristiche proprie per ogni tipo di colonia batterica. Esse riguardano diametro, bordo, rilievo, colore, trasparenza e azione sul terreno. Il terreno viene messo a 37°C.

A volte si possono usare i terreni liquidi, come nel caso di una emocoltura per vedere se il paziente ha una setticemia. Nel terreno liquido si possono mettere 10 ml di sangue in 100 ml di terreno. Questo si può fare perché il sangue è sterile, e quindi anche se i batteri saranno in soluzione c'è ne sarà un solo tipo, ma non tanti tipi di batteri. Questo sistema è valido per tutti i liquidi fisiologici. Il terreno liquido in questo caso è vantaggioso perché aumenta di 100 volte la probabilità di successo, inoltre per un esame del genere sarebbero giocate 100 piastre di terreno solido di coltura.

Ai terreni base spesso vengono aggiunti altre sostanze a seconda delle esigenze dei batteri da coltivare, ad esempio *sangue*, *siero* e *estratto di lievito*. In alcuni si mettono anche fattori di crescita quali *acido folico*, *acido nicotinico* e *vitamine B1*. I batteri che necessitano di un fattore di crescita si chiamano *autotrofi*.

I terreni possono essere :

*selettivi* quando riescono selettivamente ad inibire la crescita di un determinato tipo di batteri e sviluppare la crescita di altri.

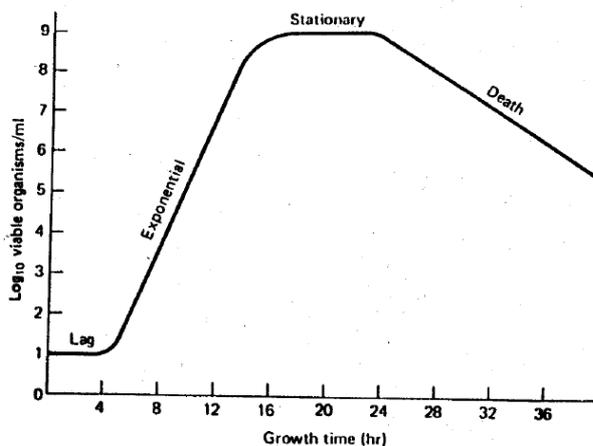
*Differenziali* ci consente di individuare diverse specie di batteri

*Arricchimento* terreno liquido in grado di favorire la crescita di alcune specie batteriche e di sfavorire la crescita di altre.

## Misurazione della crescita batterica

Nei terreni le cellule batteriche si moltiplicano con un periodicità tipica di ogni specie, ad esempio, nel E.coli si ha una duplicazione ogni venti minuti. Il loro andamento di crescita avviene in maniera esponenziale in una fase iniziale, fino a raggiungere una fase stazionaria, e quando cominceranno a diminuire le sostanze nutritive ed aumentare le sostanze di scarto, inizieranno a morire delle cellule batteriche raggiungendo un equilibrio per ogni cellula nata una morta.

## Curva di crescita



Se così non fosse in meno di 24 ore da una singola cellula batterica si avrebbero più batteri rispetto alla popolazione umana terrestre.

Comunque sempre in questa enorme crescita la preoccupazione in campo clinico è che nasca qualche batterio mutato con una maggiore farmacoresistenza.

Per misurare la crescita batterica si possono usare tre metodi, che sono:

- *metodi fisici*. Questi osservano il cambiamento della torbidità, misurabile con lo spettrofotometro, e la variazione di peso. Questo metodo è poco efficiente perché considererà anche le cellule morte
- *metodi chimici*.
- *Metodi biologici*. Questi determineranno UFC (unità formante colonia)

Questo metodo si ottiene diluendo sempre di più una colonia batterica in diverse soluzioni. Alla fine, attraverso una operazione matematica, siamo in grado di stabilire la crescita batterica.

## SPORE

Ci sono dei microrganismi appartenenti al genere *bacillus* o genere *clostridium* che sanno fare spore. Le cellule si modificano passando dallo stato vegetativo(normale) a spora.

La spora è resistente a:

- calore,
- essiccamento,

- pH esterni,
- radiazioni,
- assenza di sostanze nutritive.

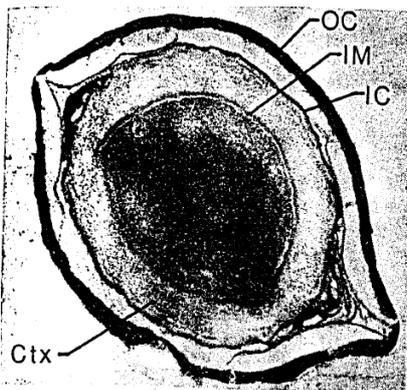
Le spore sono prodotte solo da alcuni microrganismi, che creano una cellula piccola e disidratata, metabolicamente quiescente. Le spore vengono prodotte quando la cellula batterica vegetativa si trova in una situazione di disagio. La cellula perciò reagisce alle offese ambientali andando in *dormienza biologica*, diventando perciò spora: in questo caso essa durerà millenni, durante i quali non farà assolutamente niente. Infatti, se solo la cellula avesse un minimo di attività, morirebbe dopo qualche anno.

### **Struttura della spora**

*Il citoplasma è molto disidratato, avvolto da una membrana citoplasmatica. All'esterno vi troviamo una parete batterica cellulare di peptidoglicano, dopodiché vi troviamo il cortex, che è peptidoglicano modificato. Qui compare una molecola straordinaria, presente solo nelle spore: l'acido dipicolinico.*

La spora deve poter essere posta anche in sostanze estremamente nocive, quindi è necessario per la spora avere ulteriori involucri esterni oltre al cortex. Questi sono, di seguito, i coats (coat1 e il coat2) e l'esosporio. I coats, sono strutture impermeabili, fatte con un involucro di proteine cheratinosimili, ricche di legami S-S. L'esosporio è una membrana molto sottile, la più esterna della struttura della spora, formata da fosfolipoproteine e acidi teicoici

Struttura spora



I livelli di metabolismo nella spora rispetto ad una cellula normale:

- avrà un intero corredo cromosomico (informazione genetica completa)
- avrà t-RNA ma non m-RNA
- possiederà ribosomi

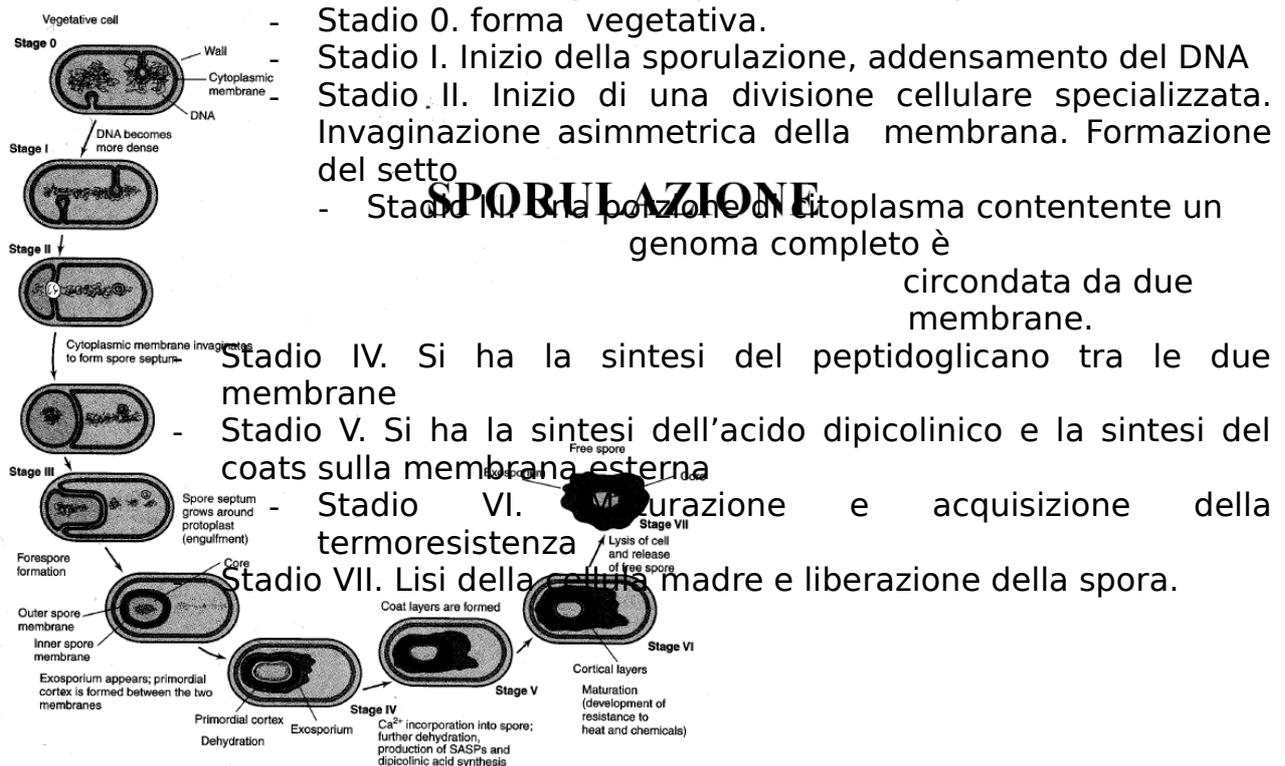
- immensa quantità di acido fosfoglicico

La sintesi del cortex esercita una forte pressione sul contenuto citoplasmatico, causando un suo compattamento e quindi la disidratazione del citoplasma. Infatti la termoresistenza si ha proprio grazie alla disidratazione e al dipicolinato di calcio. Quest'ultimo, che forma i coats, è resistente alle sostanze chimiche. Il SASP (small acid soluble proteins) è, invece, una componente della spora resistente agli UV.

### SPORULAZIONE

Come sopra detto, la cellula batterica in condizioni per lei avverse diventa spora mediante il processo di *sporulazione*. Il processo inverso, invece, che porta la spora a cellula si chiama *germinazione*, ma in questo caso la cellula deve essere attivata.

Passiamo in esame in maniera dettagliata il processo della sporulazione.



### **GERMINAZIONE**

La spora puÓ compiere anche il processo inverso, ossia la *germinazione*. AffinchÈ questa accada la spora deve riconoscere che l'ambiente esterno non è a lei piú ostile. Deve esserci il fenomeno della *attivazione* che consiste in una parziale rottura dell'impermeabilit  del coats permettendo cos  l'acquisizione di una molecola esterna che indica le condizioni, consentendo alla cellula di capire che la situazione esterna è cambiata.

AffinchÈ la cellula riacquisti le sue attivit  metaboliche vegetative, abbandonando cos  la condizione di spora, deve compiere il processo della germinazione. Nell'ambiente, si avr  che il coats si degrader  spontaneamente con il passare del tempo. Non bisogna confondere l'attivazione della spora e la germinazione. Infatti nello stato attivato la spora puÓ rimanerci per anni e serve per capire le condizioni esterne. La germinazione, invece, avviene quando le condizioni esterne diventano favorevoli, grazie al segnale fornito dalla spora attivata. La penetrazione delle molecole durante l'attivazione d  il via ad una serie di reazioni metaboliche che sfociano nella germinazione. La spora rilascer  nell'ambiente calcio e acido dipicolinico, perdendo cos  la termoresistenza, inoltre avremo l'idrolisi del cortex che porta al reidratarsi della spora. La spora torner  a cellula riacquistando interamente la sue funzioni metaboliche.

## GENETICA BATTERICA

I batteri hanno la capacità di svolgere molte funzioni. Tra le tante hanno pure la capacità di svolgere la trasmissione genetica orizzontale. Questo metodo è tipico soltanto dei batteri. Lo scambio di geni può avvenire in 3 modi:

- trasformazione
- transduzione
- coniugazione

passiamo in esame i metodi sopra descritti.

### **Trasformazione**

Acquisizione diretta da parte di una cellula competente (ricevente) di un frammento genico proveniente da un'altra cellula (donatrice,) che è andata incontro a lisi.

Questo lo sperimentò nel 1928 Griffith, iniettando in topi batteri capsulati e non capsulati. Questo è un sistema inefficiente per una serie di motivi.

- 1) perché molti microrganismi non vanno incontro a lisi e quindi non si libera il genoma.
- 2) La cellula ricevente deve essere in fase di competenza (*particolare condizione* del suo ciclo cellulare).
- 3) L'acido nucleico deve essere di dimensioni non eccessive per poter entrare all'interno della cellula ricevente.

### **Transduzione**

Avviene grazie all'intervento di elementi vettori che trasportano l'informazione dalla cellula all'altra. I vettori sono dei virus della cellula batterica che si chiamano *batteriofagi* o *fagi*

#### Batteriofagi

Si distinguono in due classi:

- virulenti = arrivano ad una infezione virulenta che sfocia nella lisi cellulare.
- temperati = questi possono dare una infezione produttiva, in questo caso come i virulenti, o

*lisogenizzazione*. In questo caso il fago si nasconde nel

genoma della cellula

batterica diventando così *profago*. La cellula porta inserito nel suo cromosoma

il genoma fagico in forma inespressiva, fin quando non ritornerà sottoforma di

fago. Gran parte dei geni virali sono repressi, cioè non c'è sintesi delle proteine

strutturali dei virus.

I virus dei batteri sono abbastanza complessi. I fagi non penetrano nella cellula infettandola, ma iniettano il loro materiale genetico facendo seguire la trascrizione e la traduzione. I fagi virulenti frantumano il DNA della cellula batterica e daranno la liberazione dopo aver sintetizzati altri fagi.

I temperati fanno lo stesso nella parte iniziale, a differenza che il genoma virale si circolarizza, prende contatto con il genoma batterico, segue il crossing-over ed entra nel genoma della cellula batterica. Quando la cellula si duplicherà, *duplicherà anche la copia del genoma del profago*. Esso rimane allo stato di profago grazie all'aiuto di repressori, che *appena vengono a mancare*, lo fanno ritornare allo stato di fago.

Il fago quando si integra nel genoma batterico, lo fa in un punto ben preciso. Ad esempio il fago  $\lambda$  (lambda) del E.coli si mette in un determinato punto da avere da un lato il gene *bio* e dall'altro lato il gene *gal*.

Quando il profago torna a fare il fago si potranno avere due situazioni

Questa è una transduzione specializzata perchè può inserire soltanto il gene *bio* e il gene *gal*, ma non altri geni. Una transduzione generalizzata invece è quando il profago torna a fare il fago portando con sé un pezzo qualsiasi di genoma batterico.

### **Coniugazione**

Trasferimento a senso unico di una parte di genoma di una cellula batterica donatrice (maschio) in una cellula batterica ricevente (femmina) attraverso un contatto fisico.

La capacità di trasferimento dipende dalla presenza nella cellula di un fattore di fertilità (fattore F). Questo rende la cellula maschio. Il fattore F è un plasmide, cioè un segmento genico circolare. Deve avere sequenze di inserzione e possono trovarsi liberi nel citoplasma o nel genoma. Ci sono geni che servono per il trasferimento e per la duplicazione. I geni per il trasferimento specificano

la sintesi del pilus F sessuale. Questo è un flagello.

I batteri che hanno il plasmide nel genoma sono HFR (alta frequenza di ricombinazione).

Quando il plasmide non è integrato la cellula F<sup>+</sup> rimane F<sup>+</sup>, invece la F<sup>-</sup> diventa F<sup>+</sup>. Ma la cellula F<sup>+</sup> ha ricevuto soltanto informazioni plasmidiche e non cellulari. Soltanto quando il plasmide è integrato trasferisce anche geni cellulari, ma il fattore F non passa mai nella cellula ricevente, che rimane F<sup>-</sup>, a causa della lunghezza del genoma. La probabilità che un gene cromosomico sia trasferito è tanto maggiore quanto più è vicina l'estremità iniziale del trasferimento.

### **LFR**

» un fenomeno che assomiglia alla trasduzione specializzata. Il fattore F, con una frequenza che è sua, si integra e torna fuori dal genoma. Nell'uscire si porta con sé un pezzo di gene dando così un fattore difettivo. Questo fenomeno ha una frequenza molto bassa e in più necessita di un errore anche nella fuoriuscita.

## **VIRUS**

Questi sono entità molto semplici dove all'interno vi è la presenza di un'informazione genetica scritta sotto forma di DNA o RNA, racchiusa in un involucro più o meno semplice, ad esempio *pericapside* (envelope). Questo può esserci o no, ma se manca il virus non può infettare.

I virus per duplicarsi devono penetrare all'interno di una cellula utilizzando le funzioni della cellula ospite. Per fare questo i virus devono usare delle molecole proprie.

La prima cosa che un virus deve fare, è riconoscere una *cellula target* e legarsi saldamente ad essa. Dopodiché avviene la penetrazione.

Può avvenire in modi diversi. Generalmente il virus entra totalmente all'interno della cellula, il pericapside si fonde con la membrana citoplasmatica. In seguito il virus si spoglia completamente e deve fare due cose fondamentali: introdurre la sua informazione genetica e replicarsi.

Una molecola virale riconosce un antirecettore sulla membrana della cellula, e il pericapside si fonde con la membrana citoplasmatica. In caso di batteri virulenti le proteine vengono unite con il genoma, mandando la cellula ospite incontro a lisi con la fuoriuscita delle particelle virali. La cellula muore.

## Replicazione dei virus

Nella fase di replicazione si riconoscono diverse tappe, quali:

- aggancio. Il virus si aggancia alla cellula sul recettore
- penetrazione. Il pericapside si fonde con la membrana citoplasmatica e il virus penetra all'interno della cellula
- scapsidazione. Il virus si spoglia del pericapside
- traduzione
- assemblaggio
- rilascio

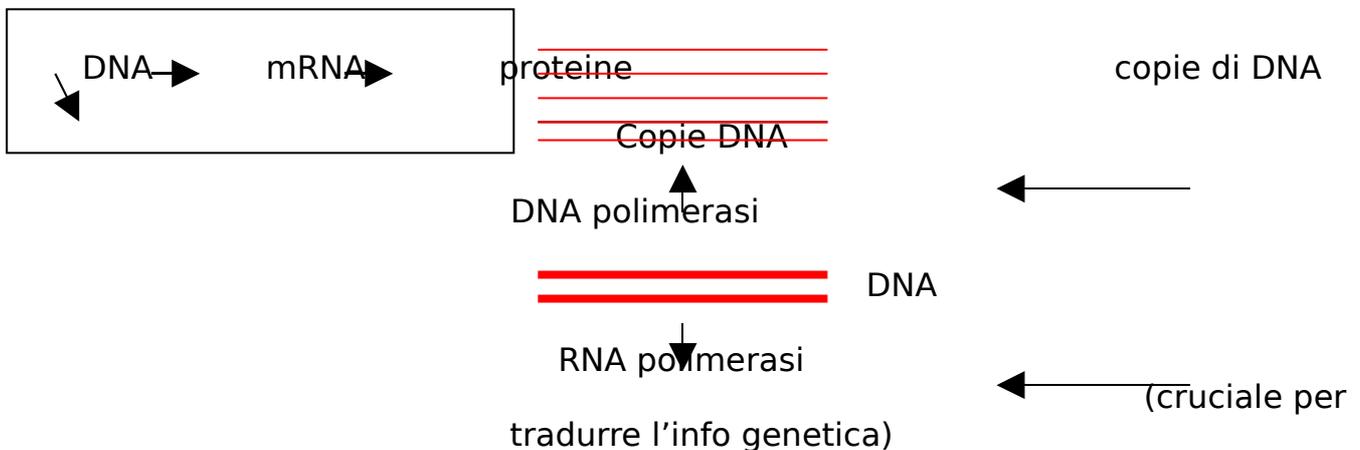
I virus si possono *classificare in base alla struttura dell'informazione genetica*, e, a secondo di questa, variano i processi di duplicazione. I virus si distinguono in *DNA bicatenario* (grandissima maggioranza) e *DNA monocatenario* (parvovirus, quale quello dell'herpes). I virus sono anche ad *RNA monocatenario* (maggioranza) e *RNA bicatenario*

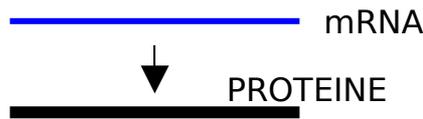
## Replicazione virus a DNA

Questo deve svolgere due funzioni fondamentali, quali la trascrizione (fare RNA), la traduzione (proteine) e la duplicazione del suo genoma. Per fare ciò essa necessita della RNA polimerasi e della DNA polimerasi. Il virus questi enzimi può averli con sé oppure può utilizzare quelli della cellula.

Ci possono essere perù le seguenti varianti:

- polimerasi presente: assemblaggio in sede citoplasmatica
- polimerasi assente: si deve replicare in sede nucleare usando l'RNA polimerasi della cellula che trascrive il suo DNA e successivamente sintetizza le proteine a lui necessarie





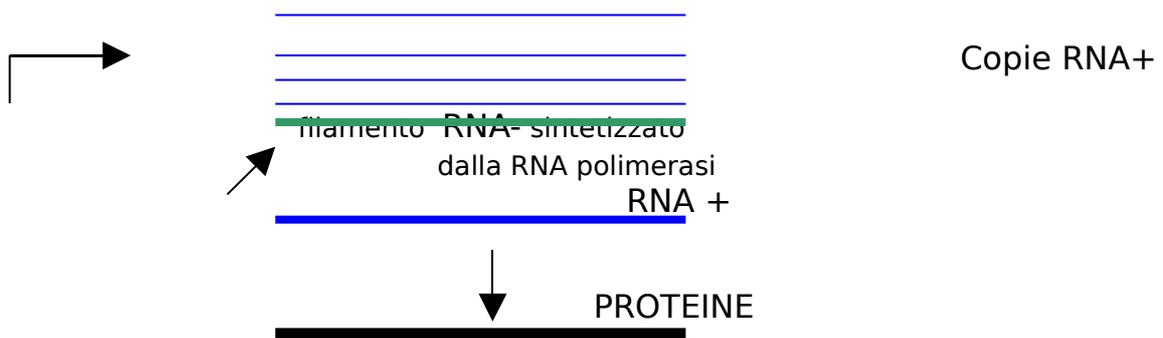
### Replicazione virus a RNA

I monocatenari possono a loro volta essere distinti in:

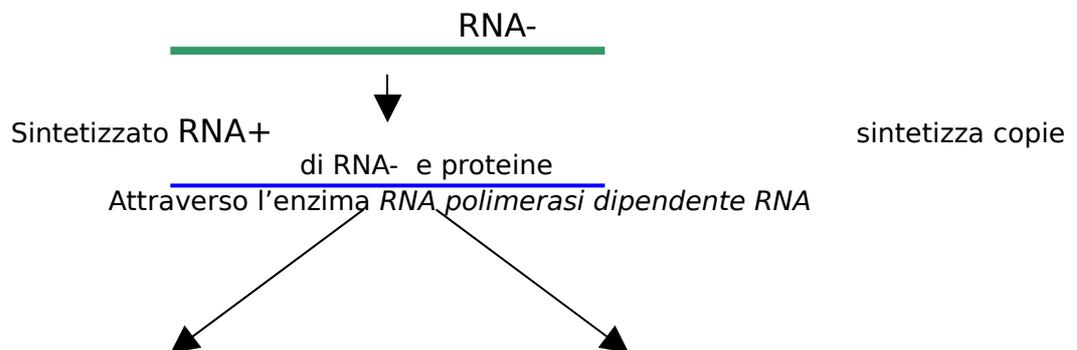
- a *polarità positiva*, quindi possono fungere direttamente da m-RNA,
- a *polarità negativa*, dove l'RNA non può fungere da messaggero e deve essere portato in polarità positiva.

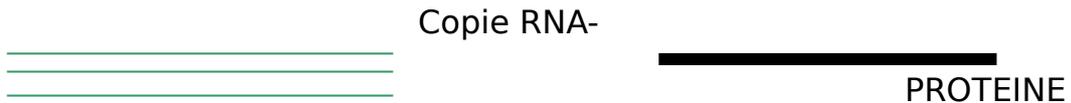
L'RNA a polarità positiva deve fare due cose: proteine e copie di se stesso. Per fare delle *copie di se stesso RNA+* deve fare degli intermedi di RNA- che fungeranno da stampo per la sintesi di tutti gli RNA+.

Anche in questo caso il virus può avere le polimerasi con sé o sfruttare quelle della cellula ospite.



L'RNA a polarità negativa, a differenza di quello a polarità positiva, manca di m-RNA. Un virus perciò non può tradurre la sua informazione genetica per creare proteine. Bisogna perciò creare una copia di RNA a polarità positiva in modo che permetta sia di fare copie di se stesso fungendo da stampo, sia di avviare, sempre tramite l'RNA+, la sintesi proteica in quanto contiene l'mRNA. Per attivare questo meccanismo serve un particolare enzima che è l'*RNA polimerasi dipendente RNA*





Nel caso dei virus RNA ci sono anche i *retrovirus*. Questi attraverso un'enzima possono compiere la *trascrittasi inversa*, cioè da RNA trascrivono DNA. Questo meccanismo è proprio soltanto di questi procarioti, la cellula eucariote non riuscirebbe a farlo mai.

## MALATTIE DA INFEZIONE

L'infezione è data da una moltiplicazione dei microrganismi patogeni all'interno dei tessuti, dove questo va a creare un danno, seguendo uno stato di malattia.

Per provocare una malattia un microrganismo deve eseguire le seguenti tappe:

1. raggiungere l'ospite,
2. penetrare nell'ospite,
3. moltiplicarsi nei tessuti,
4. resistere e non stimolare la difesa immunologica dell'ospite

solo dopo che ha effettuato queste tappe, il microrganismo può provocare una malattia.

Ma a questo c'è un'eccezione, infatti ci sono microrganismi all'interno del nostro corpo specialmente nell'apparato gastroenterico come ad esempio l' "Escherichia Coli", dove infettano l'apparato, ma non causano nessuna malattia. O per lo meno solo in alcuni casi di seguito illustrati questi possono portare a patologie.

Infatti i microrganismi si distinguono in *patogeni veri*, dove una volta penetrati all'interno del nostro corpo, causano malattie, e *patogeni opportunisti*, dove questi causano una malattia solo quando si viene a rompere l'equilibrio tra la capacità difensiva del nostro organismo, e l'attività aggressiva del microrganismo.

I microrganismi che provengono dall'esterno penetrano nel nostro corpo mediante diverse vie, la più frequente e la via alimentare, con la via respiratoria, ma anche la via genito-urinaria. Inoltre l'ingresso può avvenire anche mediante le ferite da trauma che chirurgiche .

Ci sono poi microrganismi che vanno sotto il nome di *zoonoses*, dove queste portano delle malattie agli animali, ma non attaccano l'uomo, un esempio è la "brucella", dove questa causa la brucellosi. L'uomo però può infettarsi solo viene a contatto anche in maniera accidentale con l'animale.

Altri agenti patogeni quali ad esempio l'agente eziologico della malaria, per entrare

all'interno del nostro corpo necessitano di un *vettore*, dove in questo caso è una zanzara.

Altri agenti patogeni quali quelli della febbre gialla e della peste, colpiscono il ratto, solo quando si viene a rompere un equilibrio uomo – ratto, la pulce del ratto salta sull'uomo infettandolo, dopo di che la malattia si porta al polmone, permettendo così la trasmissione per via aerea.

I meccanismi di difesa che il nostro organismo presenta sono disposti in tutte le parti d'entrata.

Esaminiamo adesso le varie vie d'entrata dei microrganismi all'interno del nostro corpo, con i sistemi di difesa presenti.

### **Apparato respiratorio**

La via respiratoria innanzitutto presenta un percorso piuttosto tortuoso prima di giungere al polmone, in questo modo il microrganismo rischia già in partenza di non arrivare ai polmoni. Ma oltre a questo l'apparato respiratorio presenta la *secrezione mucosa*, data dalle cellule globose, e l'apparato *ciliare*. Il muco ha la funzione di imprigionare tutte le impurità che noi inaliamo nella respirazione, mentre l'apparato ciliare, ha il compito di espellere con i suoi movimenti ben precisi il muco sporco.

Naturalmente ci sono vari fattori che possono rompere l'equilibrio muco-ciliare, e questi sono:

- *fibrosi cistica*: si tratta di una malattia genetica che colpisce i quelli che sono i canali al cloro, causando nei polmoni la secrezione di un muco eccessivamente denso che non si riesce ad espellerlo. Si vengono così a creare sempre più processi broncopatici, fino a che il polmone perde la sua funzione.
- Infezioni virali
- *Bronchite cronica*: data da fumo e inquinamento atmosferico
- Malattia asmatica
- *Malattia di Kartagener*: colpisce tutte le cellule mobili, tra cui l'apparato ciliare
- Intubazione

### **Orofaringe**

L'orofaringe è difesa da due sistemi, che sono:

- attività detergente della saliva,
- *Microrganismi*: attività di alcuni microrganismi residenti di cui batteri e funghi, dove il loro reciproco equilibrio non permette l'impiantarsi di un batterio esterno.

Il venir meno di queste condizioni causa infezioni. Queste possono venir meno in base a *disidratazione*, dove diminuisce la quantità di saliva prodotta, e l'*avitaminosi*, che porta ad una minor resistenza della mucosa.

### **Apparato digerente**

I microrganismi nell'apparato digerente, devono innanzitutto attraversare il muco acido dello stomaco, dove questo rappresenta un importante meccanismo di difesa.

Nel duodeno abbiamo poi inoltre la presenza dei sali biliari. Si ha inoltre la presenza come nell'orofaringe di microrganismi residenti, dove questi combattendosi tra di loro non permettono lo sviluppo di microrganismi provenienti dall'esterno.

### **Apparato urinario**

I microrganismi penetrano nell'apparato urinario, in maniera ascendente, portandosi verso l'alto sino ad arrivare al rene.

Il primo meccanismo di difesa è rappresentato dal *flusso urinario*, dove impedisce il risalire dei microrganismi.

Il secondo sistema di difesa è dato dalla *composizione dell'urina*, dove questa presenta una elevata osmolarità, pH acido, ed elevata concentrazione di Urea, dove questa è notevolmente dannosa per i microrganismi.

I fattori che fanno venir meno i meccanismi di difesa sono sostanzialmente due.

Il primo riguarda un minor flusso dell'urina, causato da:

- disidratazione,
- malformazioni congenite,
- ipertrofia prostatica,
- calcolosi,
- compressione ab extrinseco
- sclerosi multipla e lesioni midollari (vescica neurologica)
- deficit funzionale con reflusso vescico-uretrale

l'altro fattore riguarda una variazione della composizione dell'urina, dove questa è dovuta principalmente a:

- gravidanza,
- insufficienza renale,
- diabete.

### **Meccanismo di infezione da parte dei microrganismi**

Essi per infettare devono comunque aderire agli epiteli, con proteine adesive

poste sulle fimbrie. Ci sono molti modi di aderire, molti dei quali con legame altamente specifico. Una volta aderito il microrganismo rimane nel punto dove aderisce, in produce una sostanza simile a quella della capsula, ma non organizzata in capsula, ma disposta in maniera tale che il microrganismo si possa proteggere. Questa copertura prende il nome di "glicocalice".

Dalla superficie dell'epitelio il microrganismo si deve portare in profondità, mediante gli spazi interstiziali, o mediante le cellule. in fine deve attraversare la membrana basale. Per farsi strada il microrganismo utilizza la secrezione di ialuronidasi, proteinasi, collagenasi e nucleasi.

Una volta portatosi più in profondità esso è soggetto alla difesa data da:

- *anticorpi*: molecole prodotte dal Sistema Immunitario per qualsiasi "non self" dove riconosce un antigene e produce una risposta anticorpale specifica per quel determinato antigene,
- *fagociti*: inglobano il complesso anticorpo-antigene depolimerizzandolo
- *cellule dell'immunità cellulo- mediata*: questa è data dai linfociti T e B
- *complemento*,
- *interferone*.

Ma a tutto questo c'è da aggiungere perché qui il microrganismo ha a disposizione una serie di vie specialmente linfatiche, dove esso mediante questi può raggiungere i vari distretti dell'organismo.

La rete linfatica è perché presidiata dai linfonodi, dove avviene la prima "battaglia", se vi è la presenza di microrganismi nella linfa. Questo avviene per impedire che il microrganismo raggiunga il sangue. La battaglia è quasi sempre vinta dai linfonodi, ma ci sono alcuni casi dove questa è vinta dal microrganismo. Un esempio tipico è la *peste bubbonica*, dove il linfonodo dopo aver perso la battaglia, va incontro a necrosi, con formazione di pus, danneggiando anche quelli che sono i tessuti adiacenti, e può anche fistolizzare all'esterno.

Se il microrganismo riesce a oltrepassare il linfonodo si porta nei vasi sanguigni, e mediante questi si porta specialmente al fegato o alla milza. A questo livello i microrganismi si moltiplicano e sempre mediante il sangue si portano in regioni più lontane preferendo determinati organi.

I microrganismi si possono muovere nei seguenti modi:

- *via diretta*: mediante il sangue o la linfa,
- *altre vie*: ad esempio mediante dei nervi. Un esempio tipico è l'*herpes virus*, dove questo quando non si manifesta, si nasconde all'interno del ganglio trigeminale di Gasser, quando nel nostro organismo si abbassano le difese immunitarie, questo mediante la branca mandibolare del trigemino si porta a manifestarsi spesso sulle labbra.

I microrganismi inoltre attuano dei sistemi tali da difendersi dalle difese immunitarie del nostro organismo. Queste sono:

- *mancata esposizione del bersaglio nascosti in siti inaccessibili*: un esempio tipico prima citato è l'*herpes virus*, dove questo si nasconde nel ganglio Trigemiale, così come altri microrganismi si nascondono in altri siti. Uno dei più eclatanti è il virus della "mononucleosi" dove questo si nasconde addirittura nei linfociti circolanti. Il "plasmodium malaria" si nasconde nei globuli rossi, mentre la "brucelle" si nasconde nei macrofagi.
- *Neutralizzazione di anticorpi con antigeni solubili*: il microrganismo emette particelle solubili, che vengono colpiti dal S.I. ma non colpiscono il vero microrganismo. Questo è tipico dei capsulati dove liberano antigeni propri della capsula, e questi verranno colpiti dal S.I. ma con azione vana visto che il corpo cellulare non voi si trova. Questo è tipico del virus dell'epatite B.
- *Interferiscono localmente con il sistema immunitario*: a secondo i microrganismi mettono in atto dei modi per sfuggire al S.I. . Il batterio *S. Aureur* secerne delle "coagulasi" che polimerizzano il fibrinogeno in fibrina e vi si riveste, in modo tale da non essere colpito dal S.I. . questo batterio possiede anche la "proteina A", dove questa va a legare le IgG in maniera rovesciata, non permettendo in questo modo l'attacco dei macrofagi. /// il *Toxoplasma gonodii*, forma delle cisti nascondendosi all'interno. /// I *gonococchi* e *pneumococchi* producono delle "proteasi" che vanno a distruggere le IgA, situate sulla mucosa respiratoria.
- *Variazione antigenica*: i microrganismi compiono delle variazioni antigeniche in modo tale che il S.I. non riconosce immediatamente il microrganismo. Questo comporta un alternarsi di stati di malattia con febbre, e di stati di benessere, ma che segue subito la malattia causata dal microrganismo modificato geneticamente.

Il nostro S.I. non attacca se prima non c'è l'aggressione dal microrganismo, quindi possiamo in definitiva dire che questo meno virulento è maggiore è la sua possibilità di non essere attaccato dal S.I.

La risposta immunitaria più importante è data dall'infiammazione. Se prendiamo come esempio un foruncolo pieno di pus esso porterà a le seguenti condizioni,

- rubor, - tumor, - calor, - dolor, e -funzione lesa.

Spesso il foruncolo riguarda il follicolo pilifero . nel punto dove si ha l'infezione il S.I. manda normalmente i *polimorfo nucleati* sintetizzati nel midollo osseo, dove si spostano attraverso il circolo ematico, e per portarsi sul luogo dell'infezione seguono un gradiente elettro chimico, che li attirerà nella regione dove essi devono svolgere la loro funzione. Mediante un meccanismo di vasodilatazione dell'endotelio i Polimorfo nucleati fuoriescono dal vaso sanguigno, dove proprio a causa di questa vaso dilatazione si crea il rubor, tumor e calor, il dolore è invece dato da delle "chine" particolari. Una volta incontrato l'aggressore e questo già legato all'anticorpo, i polimorfo nucleati, fagociteranno al loro interno il complesso antigene-anticorpo, e

fondendolo con un lisosoma, verrà depolimerizzato il tutto.

Vi sono alcuni microrganismi che inibiscono la sintesi dei polimorfo nucleati, causando una diminuzione di questi.

Questo accade specialmente con la *salmonella tifi*, che va a reagire con determinate molecole che regolano la sintesi dei polimorfonucleati causando una diminuzione di questi.

#### ***Inibizione della produzione dei fagociti***

I batteri attuano vari sistemi per difendersi dall'azione fagocitaria. Questi sistemi sono:

- si sono molecole chiamate *colony stimulating factory* che agiscono a livello del midollo osseo sulla sintesi dei globuli bianchi, quindi i batteri andando ad interagire con queste inibiscono la sintesi dei fagociti.
- Altri causano vasocostrizione, impedendo in questo modo la fuoriuscita dai vasi sanguigni dei fagociti. Una di queste molecole è la *Alfa-emosilina staffilococchica*.
- Altri inibiscono il sistema, inibendo la chemiotassi.
- Alcuni batteri tra cui l'*Aureus* produce la *leucocidina*, che legandosi al colesterolo delle membrane lisosomiali, causa la rottura di queste membrane con la liberazione nel citoplasma degli enzimi idrolitici contenuti all'interno del lisosoma portando a morte il fagocita.

Se il fagocita non viene bloccato arriva sul posto d'azione ed è pronto ad espletare la sua funzione fagocitaria nei confronti di microrganismi. Non tutti i batteri comunque si possono fagocitare infatti i batteri capsulati è quasi del tutto impossibile fagocitarli, inoltre i batteri mettono in atto altre manovre deputate a non essere fagocitati, quale quella di secernere l'enzima "coagulasi" che permette un rivestimento di fibrina al batterio rendendolo impossibile alla fagocitosi, oppure un altro sistema è quello di legare al contrario l'anticorpo grazie alla "proteina A", in questo modo il fagocita non riconosce più il complesso antigene anticorpo.

Se il macrofago internalizza il microrganismo forma al suo interno un *fagosoma*. Questo per essere eliminato definitivamente deve essere fuso con un lisosoma, formando il *fagolisosoma*.

Il batterio della tubercolosi mediante determinate molecole, non fa avvenire la fusione tra il fagosoma ed il lisosoma, rimanendo all'interno del macrofago, moltiplicandosi ed infine uccidendo il macrofago.

Se il batterio resiste a tutta quest'azione del sistema immunitario causa

l'infezione, e da queste causa la malattia da infezione.

Le infezioni che portano ad infiammazione causano spesso risposte eccessive, che per il nostro corpo sono piú dannose che altro, infatti in clinica si utilizza il cortisone in modo tale da modulare quella che è la risposta immunitaria.

Il batterio puó essere dannoso indirettamente o direttamente. Nella maniera diretta esso agisce mediante la liberazione di due sostanze che sono l'*endotossina* e l'*esotossina*. Vediamo le caratteristiche di queste due molecole e gli effetti che hanno sull'uomo.

### **Endotossina**

(LPS) » un componente della membrana batterica dei Gram - . Presenta una tossicitá ridotta, con una minore specificitá d'azione. Si presenta stabile al calore e non puó essere convertita il *anotossina*.

Anatossina:

forma inattiva della tossina, che ha subito una modificazione a livello della struttura terziaria,rendendola inattiva. Viene utilizzata nei vaccini ad esempio contro la difterite. Nel vaccino viene presentato al S.I. la conformazione primaria della tossina, sotto forma di anotossina, in modo tale da non causare danni all'uomo.

Gli effetti biologici della endotossina sono:

- vasodilatazione con successivo calo della P.A.
- attivazione di una via alternativa al complemento
- attivazione fattore XII di Aigman, provocando la coagulazione del sangue, portando al C.I.D. (coagulazione intravascolare diffusa)
- attivitá pirogena.

### **Esotossina**

Sono attive a livello extracellulare, con grande specificitá d'azione. Sono attive a livello della membrana cellulare.

Esse penetrano all'interno della cellula dove modificano alcune funzioni cellulari, esplicano anche un'azione citocida, cioè non uccidono la cellula, ma gli fanno perdere la sua funzione.

Le esotossine possono essere classificate secondo l'organo d'azione, esse sono:

- cuterotossiche
- neurotrope
- citolitiche
- pantrope ( agiscono da pertutto, ma con bersagli preferenziali
- con azione anzimatica. Un esempio è la gangrena gasosa che porta a morte molto rapidamente. L'enzima in questo caso è una fosfolipasi che distrugge quindi tutte le membrane cellulari.

## DIAGNOSI DI MALATTIA DA INFEZIONE

La diagnosi di malattie da infezione è un discorso molto complesso, che prevede varie tappe di una catena, che interessa varie strutture sanitarie. Queste tappe sono:

- *sospetto malattia da infezione da parte del medico*: questa fase viene operata dal medico che dopo un'accurata visita del paziente gli sorge il sospetto che la malattia sia causata da microrganismi.
- *Prelievo*: il medico dopo il sospetto esegue un prelievo al paziente dove deve tenere conto delle modalità del prelievo, momento del prelievo, e conservazione del campione.
- *Trasporto*: il campione contenente il prelievo viene affidato ad un trasportatore.
- *Analisi e risposta dal laboratorio*:
- *Diagnosi e cura del medico*: il medico dopo la risposta del laboratorio farà la sua diagnosi ed attuerà la cura più appropriata al paziente tenendo conto delle risposte del laboratorio analisi, e di fattori relativi al paziente, al farmaco e all'agente eziologico.

La diagnosi può essere di due tipi, che sono:

- *diagnosi diretta*: dimostrazione dell'agente causale della malattia
- *diagnosi indiretta*: dimostrazione della reazione immunitaria specifica che avviene nell'organismo.

Una diagnosi diretta di malattia batterica o funginea si può eseguire in due modi che sono l'esame microscopico e l'esame colturale. L'esame inoltre può essere completato con la ricerca di genomi microbici nei liquidi biologici o nei tessuti.

esame microscopico

quest'esame ci conferisce le seguenti informazioni:

- presenza o meno di batteri,

- quantit  di batteri presenti,
- quali cellule accompagnano questi batteri (Es. leucociti),
- percentuale relativa Gram- / Gram+,
- localizzazione dei batteri rispetto alle cellule,
- morfologia dei batteri,
- caratteristiche tintoriali dei batteri,
- disposizione dei batteri.

L'esame al microscopio prevede tre tipi di importanze affinche venga eseguito, queste sono:

- *importanza assoluta*: trattasi di ricercare batteri che non si riscono a coltivare (Es. M. Leprae)
- *importanza elevata*: mediante questa si pu  dare una risposta rapida, come nel caso della tubercolosi, si pi  scegliere un buon terreno di coltura, oppure controllare che la terapia svolta sia efficace.

#### **Esame colturale**

Questo tipo prevede tre tappe che sono:

- *isolamento*: bisogna coltivare i microrganismi ed ottenerli in coltura pura.
- *Identificazione*:so utilizzano diversi approcci, quali:
  - prove biochimiche: - capacit  di utilizzare certe molecole
- produzione di particolari enzimi
- produzione di particolari metabolici
- sensibilit  agli antibatterici
  - prove immunologiche:
    - agglutinazione,
    - precipitazione,
    - immunofluorescenza,
    - fissazione del complemento,
    - neutralizzazione,
    - reazioni immunoenzimatiche,
    - reazioni radioimmunologiche.

## METODI DI STERILIZZAZIONE

La sterilizzazione è un procedimento con il quale si ottiene la completa eliminazione di tutti i microrganismi resistenti. Nella clinica deve essere resistente tutto quello che va nei tessuti o all'interno del paziente. In laboratorio bisogna sterilizzare tutto quel materiale che serve per fare una diagnosi. Ci sono diversi metodi che si dividono innanzitutto in chimici e fisici.

- chimici
- *fisici* questi a sua volta si dividono in
  - calore (umido e secco)
  - radiazioni (UV, raggi X, raggi  $\gamma$ )
  - filtrazione

Adesso mettiamo in esame ciascuno dei metodi sopra descritti:

calore secco

data la bassa conducibilità termica dell'aria sono richieste elevate temperature (160-180 °C) e tempi molto lunghi (circa 2 ore). Questo metodo è svantaggioso, oltre che per i tempi lunghi e l'elevate temperature da raggiungere, anche perché non è applicabile a tutti i materiali, infatti la plastica andrebbe incontro alla fusione.

### Calore umido

La sterilizzazione si effettua utilizzando speciali apparecchi chiamati autoclavi, all'interno dei quali, in totale assenza di aria, viene prodotto vapore d'acqua saturo. Bisogna raggiungere una temperatura di 120°C per 15 minuti circa. Questo è più vantaggioso del calore secco in quanto ha un maggior potere di penetrazione ed è applicabile anche su materiali poco termoresistenti.

### Radiazioni UV

Le radiazioni sono prodotte da lampade germicide, situate in cappe apposite, utili solo in laboratorio per i suoi lunghi tempi di sterilizzazione.

*Raggi X e Raggi  $\gamma$*

Questo tipo di sterilizzazione è utilizzata soltanto da ditte che producono materiale a perdere (usa e getta), quali siringhe, garze, etc.

## Filtrazione

Una soluzione passa attraverso dei filtri particolarmente piccoli che in parte fermano dei batteri. Questo metodo però non dà una sterilizzazione totale, ed è applicabile a quei materiali che non possono essere sottoposti ad alte temperature

## Metodi chimici

In questi metodi si utilizzano le seguenti sostanze:

- *acidi e basi forti* ( questo a secondo cosa si deve sterilizzare), - *metalli pesanti* (usato in molti casi come collirio in sala parto ), - *alogeni*, - *ossidanti*, - *alcoli*, - *fenoli*, - *tensioattivi* (saponi), - *alchilanti* (aldeide formica, ossido di etilene).

## ANTIBIOTICI

Lo studio degli antibiotici per guarire quelle che sono le malattie da infezione batterica, è fondamentale. Infatti di ogni antibiotico bisogna conoscere :

- *struttura*:
- *meccanismo d'azione*: di questo bisogna conoscere se l'antibiotico è battericida o batteriostatico. Il battericida uccide i batteri, mentre il batteriostatico ne blocca la crescita, e al momento che non lo si somministra più inizia nuovamente la crescita batterica. Bisogna inoltre sapere su quale struttura agisce, e qual'è il bersaglio molecolare.
- *Tossicità selettiva*: è il rapporto dose tossica per il batterio/dose tossica uomo
- *Meccanismi di resistenza*:
- *Indicazioni e controindicazioni*: su quali batteri utilizzarlo.

I bersagli molecolari su cui agiscono gli antibiotici non sono eccessivi, essi sono:

- inibizione sintesi parete batterica
- azione sulla membrana cellulare: questo è particolarmente tossico in quanto agisce anche sulle membrane delle cellula dell'uomo.
- Azione su acidi nucleici.

Alcuni batteri però possono presentare una certa resistenza al farmaco. La *farmaco resistenza* nasce da meccanismi diversi quali:

- inibizione enzimatica del farmaco inattivandolo. Ad esempio le

betalattamasi rompono enzimaticamente l'anelo betalattamico

- diminuita permeabilità del farmaco nella cellula batterica
- diminuita affinità per la proteina bersaglio del farmaco
- aumento della sintesi di molecole bersaglio, fino a che non baso più le molecole somministrate
- metaboliti che neutralizzano il farmaco
- diminuita capacità della cellula di convertire il farmaco nel composto attivo
- utilizzo di pompe che buttano fuori il farmaco penetrato all'interno della cellula batterica.

La farmacoresistenza nasce da una mutazione casuale. Se questo accade i batteri riescono a trasmettercela in maniera orizzontale .

Quando una cellula subisce una mutazione, essa rimane comunque a fronteggiarsi con altri microrganismi a non magari non nocivi. Ma se noi utilizziamo l'antibiotico la cellula mutata non viene uccisa dall'antibiotico che invece fa nei confronti degli altri microrganismi prima presenti, in questo modo la cellula mutata non si fronteggerà più con nessuno e può tranquillamente duplicarsi, sviluppando la malattia.

## FARMACI ATTIVI SULLA PARETE CELLULARE

Questi antibiotici sono tutti battericidi, e la loro funzione è quella di andare ad attaccare il metabolismo della parete batterica, inibendo la sua sintesi. Senza la parete batterica, il batterio rischia di andare incontro ad uno Shock osmotico portandolo a morte. Analizziamo adesso i farmaci che presentano questa funzione.

### Fosfomicina

Essa è simile al Piruvato, e viene confusa per questo dall'enzima *fosfo-enol-piruvato-trasferasi*, dove questo ha il compito di prendere una molecola di piruvato, legarla al NAG per formare il NAM.

Questo antibiotico legandosi all'enzima vi si lega saldamente in modo da renderlo fuori uso.

Questa molecola si usa sempre meno in quanto i batteri sviluppano una notevole farmacoresistenza specialmente nelle terapie lunghe.

### Cicloserina

Questo antibiotico assomiglia alla D-Alanina, dove si lega all'enzima D-ala – D-ala Racemasi e sintetasi, impedendo in questo modo la trasformazione della D-alanina nella forma Levo, e inoltre inibendo anche la D-ala sintetasi non permette più il legame di questi due amminoacidi al terzo amminoacido della catena agganciata al NAM.

Questo antibiotico è utilizzato poco in quanto presenta *neurotossicità*, con effetti pesanti nel tempo. Questa molecola veniva utilizzata contro la tubercolosi, dove questa successivamente fu curata con la **rifampicina**, ma che dopo un determinato periodo diede farmacoresistenza e quindi si dovette riutilizzare la cicloserina.

## β- lattamici

a questa famiglia vi fanno parte le *penicilline* e le *cefalosporine*.

La *penicillina* fu il primo antibiotico comparso nel 1928 scoperto per caso da Flemming.

La sua molecola è costituita da una porzione costante e una porzione variabile (R), che può variare di volta il volta, infatti si sono formate altre molecole appartenenti sempre alla famiglia delle penicilline.

Il punto di forza delle penicilline è l'*anello beta-lattamici*, dove è questo che va a reagire con le PBP (penicillin binding proteins) dei batteri gram-.

Ma molti batteri penicillino resistenti, agiscono proprio sull'anello beta-lattamico rompendolo mediante degli enzimi chiamati *beta-lattamasi* o *penicillinasi*.

La *cefalosporina* è una molecola simile alla penicillina, possiede sempre l'anello beta-lattamico, ma differisce in quanto ha due parti variabili, cioè può essere modificata in due punti.

Le penicilline così come le cefalosporine possono essere suddivisi in diversi gruppi.

Ma alcuni batteri come lo *S. Aureus*, possiede 4 tipi di PBP, dove queste verranno attaccate dalle molecole dell'antibiotico, ma esso per difendersi oltre alle penicillinasi e alle beta-lattamasi, riesce a fare una proteina tra le PBP 2 e 3, dove questa oltre a non essere attaccata dai Beta-Lattamici, svolge la funzione di tutte e quattro le PBP quindi possiede una funzione carbossipeptidasica e transpeptidasica.

Esiste un elemento genico chiamato *integrone*, dove questo è formato da tanti componenti, ognuna delle quali conferisce una determinata farmacoresistenza, situato nel cromosoma batterico. Questi integroni possono essere trasmessi in maniera orizzontale tra i batteri.

## Vancomicina

Questo antibiotico si lega alla porzione D-ala D-ala impedendo il legame con il lipide carrier quindi impedendo la sintesi della parete batterica, in quanto le componenti vengono sintetizzati nel citoplasma, mentre la parete esternamente, e questo lipide trasporta proprio i componenti della parete dal citoplasma al luogo di sintesi della parete batterica.

Esso appartiene alla famiglia dei *glicopeptidi* e sono gli unici attivi sui ceppi meticillino resistenti (caso precedentemente esposto).

Questo farmaco si presenta poco maneggevole in quanto presenta una notevole tossicità. Viene poco assorbito a livello intestinale, quindi può essere usato in maniera topica sulle infezioni del tubo digerente. Per le infezioni sistematiche va somministrato in vena ma molto lentamente in quanto può causare flebiti alla vena in cui avviene la somministrazione.

I suoi effetti collaterali sono: complicanze renali, vomito e può causare anche la liberazione di istamina con conseguente ipotensione o rash cutanei.

Alcuni batteri specialmente gli enterococchi, sono riusciti a espletare una farmacoresistenza cambiando l'ultimo amminoacido della catena legata al NAM, da D-Ala ad Ac. Lattico.

Per far questo il batterio necessita di una deidrogenasi per sintetizzare l'Ac. Lattico, necessita poi di una sintetasi in grado di legare l'Ac. Lattico al D-Ala, e successivamente per il taglio del 5° amminoacido necessita di una carbossipeptidasi che riesca a tagliare l'ac. Lattico. Tutti i geni per questa farmacoresistenza sono situati in un *transposone* dove viene trasferito interamente tra i batteri conferendo la vancomicina resistenza.

Il *transposone* è un insieme di geni (circa 10) con funzione di presentare i vari enzimi per la vancomicina resistenza.

Gli Enterococchi sono vancomicina resistenti (VRE), e i VISA ceppi di S.Aureus con resistenza media alla vancomicina. Solo in America sono presenti i VRSA con resistenza vera alla vancomicina

## Bacitracina

Agisce sul lipide carrier inibendo il processo di fosforilazione e defosforilazione. Esso è un farmaco molto tossico che viene utilizzato solo per via topica e non viene assorbito per via intestinale.

## FARMACI ATTIVI SULLA MEMBRANA CELLULARE

Farmaci che agiscono sulla membrane c'è ne sono diversi, ma questi possono avere una funzione tossica sulle membrane delle nostre cellule.

Polimixina

Agisce come detergente facendo perdere la funzione della membrana cellulare.

Ci sono ceppi chiamati VIM, dove questi resistenti a tutto, sono sensibili solo a questo antibiotico, cui nome commerciale è colistin. Questa molecola non fa altro che creare una serie di canali sulla membrana rompendo in questo modo l'equilibrio osmotico.

Sempre sulle membrane agiscono i farmaci contro le infezioni fungine, dove questi farmaci si vanno a legare a steroli di membrana situati sulle membrane dei funghi ma non dei batteri.

## FARMACI CHE AGISCONO SUL DNA

I farmaci che hanno come bersaglio la sintesi del DNA, agiscono esattamente su queste funzioni:

- inibitori della sintesi dell'acido tetraidrofolico (sulfamidi, sulfono e PAS)
- inibitori della diidrofoloriduttasi (trimetoprin)
- analoghi strutturale

inibitori della sintesi dell'acido tetraidrofolico

mediante l'acido tetraidrofolico avviene la sintesi dei nucleotidi purinici e quindi del DNA.

L'Ac. Tetraidrofolico deriva dall'Ac. Folico dove questo viene ridotto ad Ac. Diidrofolico dall'enzima *folato riduttasi*. Questo poi viene ridotto a Ac. Tetraidrofolico dall'enzima *diidro folato riduttasi*.

L'Ac. Folico è formato da Pterina + PABA + Glutammato.

Il PABA è un composto benzoico, dove sostituendo il gruppo carbossilico con un gruppo solforico si ottengono i **sulfamidi**, dove questi inserendosi nella struttura inibiscono la sintesi dell'acido folico.

Esiste anche un altro punto d'inibizione, che agisce sull'enzima che riduce il diidrofolato a tetraidrofolato, dove questo può essere inibito con il **trimetoprin**.

Sia quest'ultima molecola che il sulfamide vengono somministrati in associazione (sono le componenti del *bactrim*). Questo farmaco avendo due step sulla stessa via, è assai difficile che il batterio riesca a fare la farmacoresistenza per due molecole che agiscono sulla stessa via.

Il Trimetoprin non agisce sulla folatoriduttasi dell'uomo, in quanto quella eucariotica è 60.000 volte inferiore meno affine.

L'intero complesso non è tossico sull'uomo in quanto l'uomo non sintetizza Ac. Folico, ma lo ricava con la dieta.

Dapsone

Antibiotico che fa parte alla famiglia dei sulfamidici, e si usa per la lebbra.

### **Analoghi strutturali**

Sono molecole strutturalmente analoghe a molecole componenti il DNA, ma differenti, quindi una volta entrate nella struttura rendono il tutto non funzionale.

5-flucitosina

esso è il capostipite di una intera famiglia. Esso è un omologo fluorinato della *citocina*. Il batterio confondendo questa molecola con quella della citosina la inserisce nel proprio DNA, creando in questo modo enormi danni al genoma.

Questa molecola inoltre deaminata forma il **5-fluoracile**, e in questo modo si vengono a creare delle proteine errate. Questo farmaco si usa soprattutto nelle infezioni fungine da candida.

I batteri comunque imparano in tempi abbastanza brevi a sviluppare farmacoresistenza. Infatti è consigliabile utilizzare questo farmaco in associazione, anche perché essendo micostatico i batteri non vengono uccisi ma gli si blocca la riproduzione, inoltre come effetti collaterali può dare *trombocitonemia*, vale a dire calo delle piastrine.. Essi possono resistere diminuendo o aumentando la concentrazione di Citosina, o diminuendo l'attività della citosina deaminasi, o diminuendo l'attività della uracile monofosfato fosforilasi o aumentando la sintesi.

Sempre nell'utilizzo di sostanze analoghe strutturalmente si possono utilizzare molecole che si legano direttamente al DNA, ma questo solo in via teorica, in quanto nella realtà queste molecole possono essere estremamente dannose per il DNA delle cellule eucariotiche e quindi umane.

Acido Nalidixico

Questo fa parte alla famiglie dei *fluoro chinoloni*, dove questi colpiscono il sistema delle *girasi* (nella cellula eucariotica sono le topoisomerasi), dove queste permettono lo srotolamento del DNA.

## FARMACI CHE INIBISCONO L'RNA

La sintesi dell'RNA risulterà innanzi tutto essere inibita da quelle che sono le molecole che inibiscono la sintesi del DNA.

Vi è un farmaco specifico per l'RNA che è la **rifampicina**.

Questo è molto attivo sui micobatteri quali gli agenti eziologici della tubercolosi. Esso si lega alla sub unità  $\beta$  della RNA Polimerasi, ma non ha nessun effetto sulle cellule eucariotiche, quindi ha una scarsa tossicità.

Questo farmaco viene ben assorbito nel tratto intestinale quindi si può somministrare per via orale oltre che per via I.M. e E.V. Viene metabolizzato a livello del fegato e viene escreto con la bile conservando ancora la funzione antibatterica, quindi può essere utilizzato per curare infezioni alle vie biliari. L'unico problema di questo farmaco è che non si sono riuscite a trovare molecole omologhe, quindi una volta che i batteri riusciranno a sviluppare la farmacoresistenza nei confronti di questo antibiotico esso non sarà più funzionalmente attivo.

## FARMACI INIBITORI DELLA SINTESI PROTEICA

Questa funzione risulterà essere inibita anche sui farmaci agenti sul DNA e sull'RNA.

Questi farmaci sono:

puramicina

il capostipite è rappresentato dalla **furomicina** che assomigliando ad un tRNA per la fenilalanina si lega al ribosoma bloccando la sua funzione.

aminoglicosidici

streptomina

questa consente di curare malattie molto difficili da curare come la tubercolosi, costituendo una vera e propria svolta. Questa comunque si usa anche in altre patologie ed è stata il capostipite di una famiglia cui l'esponente maggiore è l'**amicina**.

La streptomina si lega alla proteina S 12 del ribosoma, facendo sì che il ribosoma non legga correttamente il codon, portando in questo modo ad una sintesi proteica errata.

Questo antibiotico si usa solo in ospedale in quanto è abbastanza tossico, presentando una tossicità sia sul rene e l'altra sul nervo acustico.

macrolidi

### Eritromicina

Essa appartiene alla famiglia dei *macrolidi*, è un batteriostatico, e può dare una lieve intolleranza gastrica.

Molti batteri sono diventati resistenti come lo “*streptococcus piogenes*”, dove hanno imparato a fabbricarsi delle pompe che provvedono a buttare il farmaco fuori una volta penetrato all'interno della cellula batterica.

Esistono analoghi strutturali come la **claritromicina**, dove questa viene utilizzata anche contro l'*elicobacter pilory*.

I macrolidi vengono anche utilizzati contro il “*micoplasma pneumoniae*” in quanto questo essendo privo di parete non possiamo utilizzare i Beta-lattamici.

Altri microrganismi cui usiamo i macrolidi sono le *clamidie*, dove queste causano infezioni a livello urinario, oftalmico e respiratorio.

### Tetraciclina

Anche essa appartiene alla famiglia dei macrolidi. Questo farmaco lo si usa sempre meno in quanto sia lui che con i suoi simili viene utilizzato negli allevamenti animali, dopo di che non lo ingeriamo mangiando la carne e quindi avendo sempre questa minima dose, i batteri hanno sviluppato farmacoresistenza nei suoi confronti.

### Altri

#### Cloranfenicolo

Questo farmaco viene utilizzato contro le meningiti. Presenta effetti collaterali pesanti specialmente a livello midollare. Non si usa nei bambini in quanto non viene eliminato nel fegato, e se si usa nel bambino sovrviene la sindrome del “bambino grigio”, dove spesso questa può portare a ipotermia, cianosi e collasso vasomotorio. Anche nella persona adulta esso può presentare mielotossicità. Di tossicità ne abbiamo di due tipi, una dose dipendente che porta anemia, ma appena si interrompe la cura inizia nuovamente la produzione normale dei globuli rossi. L'altra tossicità è dose indipendente o anemia plastica, dove se anche viene interrotta la terapia, non si osservano miglioramenti. Per questi motivi viene utilizzato solo per via topica e non bisogna utilizzarlo a lungo, e la sua somministrazione deve avvenire in ospedale in modo da tenere sempre sotto controllo i valori dell'emocromo.

## ANTIBIOGRAMMA

L'antibiogramma ci consente di esaminare a quale antibiotico è sensibile un determinato ceppo batterico, e qual'è la dose minima per portarlo a morte. Vi sono tre metodi per determinare l'antibiogramma, questi sono:

- metodo della diffusione in Agar,
- metodo della diluizione in brodo,
- metodo della diluizione in agar.

Andiamo adesso ad esaminare i tre metodi per la determinazione dell'antibiogramma.

### **Metodo della diffusione in agar**

Si semina il ceppo batterico sulla piastra, e sulla superficie si depongono dei dischetti contenenti ognuno un tipo diverso di antibiotico.

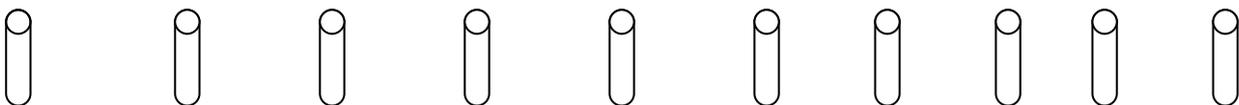
L'antibiotico inizia a diffondere nel terreno creando una sorta di gradiente di concentrazione (maggiore se piú vicino al dischetto). Se l'antibiotico è efficace per quel determinato ceppo batterico, non cresceranno batteri accanto di quel dischetto. Dopo di che si misura l'*alone di inibizione*, e si confronta con quello della casa produttrice. Viene seguita la regola del NCCLS. Se i valori del diametro dell'alone corrispondono a quelli standard l'antibiotico è efficace.

Se nell'alone vi sono piccole coloniette batteriche, significa che l'antibiotico non va bene in quanto di quel ceppo batterico c'è ne stata una piccola parte che ha sviluppato farmacoresistenza, quindi se nel paziente si somministra quel determinato antibiotico, il paziente stará momentaneamente bene, in quanto la maggior parte dei batteri è stata uccisa, ma dopo sará colto nuovamente da infezione da i batteri mutati che presentano la farmacoresistenza per quell'antibiotico somministrato.

### **Metodo della diluizione in brodo**

Con questo metodo si riesce a sapere anche la dose minima per uccidere il batterio. Dopo aver fatto il metodo della diffusione in agar, si preparano una serie di provette. Nella prima si hanno 2 ml di brodo contenenti 1024 µg/ml. Dopo di che si toglie un ml dalla prima provetta e si mette nella seconda, in modo tale da ottenere un dimezzamento della concentrazione è cosí via fino a raggiungere la concentrazione di 1.

512            256            128            64            32            16            8            4  
2                1



Dopo aver fatto questo si prende il ceppo isolato e si inocula in ogni singola provetta, e si vede fino a che concentrazione non cresce il ceppo batterico. Questo metodo come detto è fondamentale per determinare la MIC (minima concentrazione inibente).

### **Metodo della diluizione in agar**

Simile al metodo della diluizione in brodo, solo che a posto delle provette si usano le piastre, potendo mettere piú ceppi sempre dello stesso batterio.

Scelta dell'antibiotico da parte del medico

Spesso per un solo batterio il risultato dell'antibiogramma dice che ci sono piú antibiotici efficaci per lo stesso batterio, quindi il medico deve scegliere una serie di cose, quali:

- farmaco da usare,
- dosaggio,
- via di somministrazione,
- durata terapia,
- eventuali terapie collaterali,
- possibili associazioni.

Bisogna inoltre attenzione:

-fattori relativi all'agente eziologico:

- specie batterica,
- sensibilit  all'antibiotico

-fattori relativi al paziente:

- storia di ipersensibilit 
- fattori genetici,
- et ,
- gravidanza,
- anomalie metaboliche: bisogna vedere se il paziente presenta uno scarso livello di perfusione, e quindi   inutile somministrare il farmaco per via I.M. in quanto non verrebbe metabolizzato, o se il paziente presenta patologie a carico di alcuni organi quali magari il farmaco presenta una certa farmacotossicit 
- sede della infezione,

-fattori relativi al farmaco:

- farmacocinetica,
- sinergismo o antagonismo

un'altra cosa che bisogna valutare è :

- costo del farmaco,
- farmaco vecchio o nuovo. Si deve comunque utilizzare la molecola piú vecchia in modo da preservare la efficacie del farmaco e non far sviluppare farmacoresistenza.
- Associazione: ogni tanto il medico si trova costretto ad associare due farmaci, quindi deve analizzare il sinergismo o l'antagonismo dei due. Di norma si somministrano o due battericidi, o due batteriostatici, in quanto entrambi hanno un effetto antagonista.

Gli antibiotici sono farmaco con impatto sociale. Nel corso degli anni la produzione degli antibiotici è andata sempre via via crescendo, dove perÚ la met½ dell'uso che se ne fa è del tutto inutile, ad esempio vengono utilizzati contro le infezioni virali, o ancora peggio vengono utilizzati in zootecnica, ma non per curare gli animali, ma per farli ingrassare. Un'altra buona fetta di antibiotici viene utilizzata in agricoltura. Per questi motivi i cibi che non ingeriamo giú contengono di loro degli antibiotici, inoltre questo a portato in determinati batteri a sviluppare una certa farmacoresistenza, tipo i VRE che si trovano nel pollo, e noi li mangiamo insieme ad esso. Inoltre questi antibiotici oltre ad operare sui batteri patogeni, operano contro i batteri non patogeni necessari a noi per la sintesi delle vitamine. Inoltre uccidendo i batteri non nocivi, si dà ampio spazio allo sviluppo di batteri nocivi farmacoresistenti. Infine diciamo che i batteri non nocivi possono comunque diventare veri e propri serbatoi di geni per la farmacoresistenza, dove questa puÓ essere trasferita ad altre specie batteriche specialmente a batteri patogeni.

## BATTERI

### STREPTOCOCCHI

Sono cocchi Gm +.

Si dispongono in catene o in coppie, sono immobili, asporigeni, aerobi-anaerobi facoltativi e sono catalasi negativi.

» una grande famiglia e si possono suddividere in base al loro comportamento sull'Agar sangue, dove si ha presenza di GR, in base all'emolisina che producono e l'azione che ha sui GR.

- $\beta$  *emolitici*: emolisi totale intorno alla colonia (terreno trasparente), grazie a emolisina
- $\alpha$  *emolitici*: emolisi parziale, le colonie sono circondate da un'area verde (emoglobina degradata a biliverdina)
- $\gamma$  *emolitici*: non emolitici

La cellula ha tanto peptido-glicano, poco Ac. Teicoico e il polisaccaride C: sulla base di quest'ultimo abbiamo un'ulteriore classificazione, in quanto pu' essere diverso da stafilococco all'altro. *Classificazione di Lanfield*

Gli streptococchi su questa base sono stati divisi in diversi gruppi (18), che sono:

- gruppo A: *S. Pyogenes*
- gruppo B: *S. Agalatie*
- gruppo D: *Enterococchi*
- e via dicendo

Alcuni sono nel cavo orale, fra questi *S. Mutans* (gruppo S) d'origine alla placca e alla carie

#### ***Streptococcus Pyogenes***

implicato in 3 ordini di malattie

I. infezioni localizzate: possono per' generalizzarsi

- Cute e sottocute, con impetigine (+ lesioni tendono a confluire) e erisipela (gonfiore diffuso, spesso in zona volto, inizialmente rosso a coccarda, si espande in profondit' con forte edema e generalizza velocemente)
- angina streptococcica (faringotonsillite con placche bianche, febbre)

II. infezioni generalizzate: necessita di una P-lipasi propria solo di alcuni

gruppi di piogenes, attraverso la setticemia originano infezioni metastatiche, sepsi, endocarditi (rara, danneggia le valvole determinando "vegetazione" di fibrina e insufficienza cardiaca, accompagnata da febbre e a volte emocultura negativa), scarlattina (segno caratteristico: lingua "lampone") e fascite necrotizzante (gelatinizza i muscoli)

III: malattie post-streptococciche (reumatiche, glomerulo nefrite e scarlattina).

### Fattori di Virulenza

#### Esoenzimi

Lo rendono capace di diffondere, abbiamo ialuronosidasi, streptochinasi, DNA-asi e NAD-asi

#### Esotossine

- STREPTOLISINA O: termolabile, alto potere immunogeno, inattivata da O<sub>2</sub>, attiva solo in forma ridotta, danneggia irreversibilmente emazie, piastrine e leucociti legandosi al colesterolo di membrana
- STREPTOLISINA S: agisce sui fosfolipidi di membrana, stabile in presenza di O<sub>2</sub>, scarso potere immunogeno
- TOSSINA ERITROGENICA: Causa l'ESANTEMA DELLA SCARLATTINA, Pirogena, Citotossica, Immunosoppressiva, il tipo A è associato alla SINDROME DA SHOCK TOSSICO (agisce come un superantigene)

Abbiamo da Ac. ialuronico (proprio anche di cellule self → non attaccata da S.I.)

» presente una proteina chiamata *proteina M* che è di parete, ma che riesce ad uscire essa ed è termostabile e resistente ad un pH acido. Se ne riconoscono 60 tipi diversi. Mediante questa proteina lo S. aderisce, azione anti-fagocitaria e infine ha reattività crociata con tessuti umani, cioè assomiglia a molecole umane.

La *malattia reumatica post-streptococcica* interessa le grandi articolazioni e mono-stazionale, soprattutto riguarda il cuore, e anche un'altra parte colpisce in S.N. costituendo la Corea che sono turbe dei movimenti fini.

Sul cuore la Proteina M costituita da più parti tra cui una parte variante dove in alcuni tratti assomigliano alla tropomiosina cardiaca che quindi viene attaccata dal S.I.

A livello articolare si formano immunocomplessi riconosciuti ed eliminati, se un complesso immune è fatto da tanto antigene e poco anticorpo non viene eliminato e rimane in circolo e si possono andare a depositare nelle membrane sinoviali di qualche articolazione. Se questi complessi si vanno invece a depositare a livello del glomerulo si sviluppa la glomerulo-nefrite. Questa malattia curata non fa perdere la funzionalità del rene. Gli immunocomplessi si

depositano sulla membrana basale, con stimolo di sostanze vasoattive che aumentano la permeabilità.

Si può avere anche proteinuria ed ematuria. Con l'arrivo dei polimorfonucleati e l'attivazione del complemento si può avere un ingrandimento del mesangio con ostruzione dei dotti, sino ad arrivare all'anuria.

#### **Streptococcus Agalatae gruppo B**

Provoca patologie solo nel neonato. Può esserci nella vagina della donna ma senza manifestarsi.

La malattia a insorgenza precoce colpisce il neonato nei primi 7gg provocando *meningite, polmonite e setticemia*. La mortalità è elevata.

La malattia può insorgere anche tardivamente, non dovuta al parto, si sviluppa tra 1 e 12 gg. In questo caso si ha: meningite purulenta, reliquari neurologici gravi, ma la mortalità è molto inferiore.

#### **S. Mutans**

» l'agente eziologico di placca e carie, capace di rompere il saccarosio per poi polimerizzare Glucano e Fruttano, quindi un materiale colloso che ne permette l'adesione alla dentina (la placca può ospitare anche altri batteri). Con il suo metabolismo produce Ac. Lattico con cui fa degenerare la dentina.

#### **Streptococcus pneumoniae o pneumococco**

Capsulato. Esso causa la *polmonite lobare franca*. Questa va ad "epatizzare" il polmone, che viene infarcito di PMN, macrofagi etc, facendo diminuire la funzione respiratoria. Può provocare otite media, meningite (specie nel bambino), endocarditi e peritoniti. Ne esiste un vaccino, ma non altamente immunogenico (composto da polisaccaridi capsulari), di bassa efficacia al di sotto dei 2 anni.

#### **Enterococco gruppo D**

Causa prevalentemente infezioni delle vie urinarie, prostatiti e anche endocarditi.

Questi sono molto resistenti alla vancomicina e agli aminoglicosidici. Funzionano le penicilline e non le cefalosporine. Le prostatiti sono difficili da curare in quanto, oltre alla farmaco resistenza, la prostata è poco permeabile agli antibiotici.

#### **Gruppo F, G, H, K**

Presenti normalmente senza patologie nel cavo orale. Se vanno in circolo perú diventano patogeni in quanto possono legarsi all'endocardio ma solo se questo si presenta già danneggiato. Questa si chiama *endocardite batterica sub-acute*. Per

prevenire queste patologie è necessaria una profilassi prima di interventi odontoiatrici, data dalla somministrazione di antibiotici prima e dopo l'intervento (il batterio che raggiunga il sangue deve trovare già l'antibiotico).

### Diagnosi di streptococchi

Notata l'essenza di cocchi Gram<sup>+</sup>, i patogeni questo tipo sono Streptococchi e Stafilococchi.

Segue la prova della catalasi: se negativa il batterio appartiene alla famiglia degli *streptococchi*.

Si va a vedere l'emolisi in agar sangue. Si ha quindi  $\alpha, \beta$  e  $\gamma$ .

Se  $\beta$ -emolitico si fa la prova della bacitracina se la prova è positiva lo streptococco è del gruppo A cioè *pyogenes*. Se la prova è negativa appartiene a gruppi diversi da A. per vedere esattamente quale streptococco è si fanno test immunologici.

Se vi è  $\alpha$  emolisi si fa la prova della optochina. Se negativa sono streptococchi viridanti. Se positiva possiamo affermare che si tratta di pneumococco pneumoniae.

## MICOBATTERI

Non riconoscibili con colorazioni di Gram.

Bastoncini, acido-alcol resistenti, immobili, asporigeni, Aerobi obbligati. La maggior parte a crescita lenta

Classificazione di Runyon

- CLASSICI: m. leprae, m. tuberculosis, m. bovis, m. ulcerans, m. africanus
- ATIPICI: classificati in base a 2 parametri: velocità di crescita e capacità pigmentare (solo in presenza luce = "foto-cromofori"; solo al buio = "scoto-cromofori")

Gruppo	Crescita	Capacità Pigmentare
I	lenta	foto-cromofori
II	lenta	Scoto-cromofori
III	Lenta	Non pigmenta
IV	veloce	Non pigmenta

Parete

I micobatteri hanno una particolare parete. Oltre al peptidoglicano, arricchito da arabino-galattosio, c'è un'importante componente lipidica in cui troviamo:

- cere D
- Micosidi: (costituiscono il fattore cordale, facendo sì che la crescita

avvenga lungo una corda), inoltre sono fattore di virulenza inibendo la migrazione dei leucociti e stimolando la formazione di un granuloma, perché distruggono le membrane mitocondriali e inibiscono la fusione fagosoma-lisosoma

- Solfatidi: anche mediante questi il M. riesce a sopravvivere all'interno dei macrofagi. Ci riescono in quanto inibiscono la fusione delle membrane tra fagosoma e lisosoma e inattivano veri enzimi litici fagocitari.

### **MICOBACTERIUM TUBERCULOSIS**

Esso causa la tubercolosi. Questa malattia nel tempo è andata diminuendo specialmente con l'avvento della Streptomina e dopo con la Rifampicina. Essa comunque sta tornando ad essere un problema in quanto i m. della tubercolosi hanno sviluppato farmacoresistenza. Inoltre questa malattia si è accentuata a causa dell'AIDS.

La tubercolosi inizialmente è sempre polmonare. Inizia come *tubercolosi primaria* che porta ad alveolite con linfo-adenite satellite. Essa guarisce spontaneamente al 90% con calcificazione. Un 10% di malattia progredisce diventando *tubercolosi primaria progressiva*.

Quando si subisce l'infezione inizialmente il M. uccide i macrofagi. Si genera un granuloma = **Tubercolo**: infiltrato di cellule mononucleate che circonda cellule epiteliali e multinucleate giganti – di Langhans -, circoscritto da una reazione connettivale, mentre la porzione centrale va incontro a necrosi chiamata *caseosa* con successiva precipitazione di sali di calcio.

Nel soggetto con tubercolosi primaria progressiva o, a seguito di riattivazione/re-infezione, nel soggetto guarito si può sviluppare la *tubercolosi secondaria* o *cavitaria* che può diventare *tubercolosi miliare* dove attraverso il sangue il M. può essere portato al rene, meningi, tessuto osseo soprattutto alle ossa spugnose.

Se la flogosi continua il granuloma continua ad ingrandirsi finché non si coinvolge qualcosa quale la parete di un bronco (=tubercolosi aperta), dove si ha liberazione del materiale necrotico e la formazione di una cavità aperta all'esterno (→ contagiosa). Se l'erosione riguarda un vaso si ha l'inizio di una miliare. Se rompe vaso e bronco sopraggiunge un'emotisi, nella quale paziente è altamente contagioso. Nel paziente che ha avuto una guarigione si assisterà a tentativi di riaccensione della malattia periodicamente. Questo ha successo se il paziente è immunodepresso.

Diagnosi microbiologica

Esame microscopico

Il M. Tuberculosis cresce molto lentamente, le colonie si formano dopo 30-40 gg.

Si preleva dall'espettorato.

*Colorazione di Ziehl-Neelsen:* fucsina fenicato per 5-7 minuti, alcol etilico + HCl 3% per 30 minuti, blu di metilene per 2 minuti. Si ottengono i Micobatteri colorati rossi, tutti gli altri decolorati Blu

Ricerca dei bacilli di Koch

L'escreato uscendo si porta dietro i Microrganismi presenti nel cavo orale, quindi bisogna ucciderli utilizzando NaOH 1 N per 1h a 37°C. Dopo si centrifuga e sul sedimento ci sono i Micobatteri. L'esame colturale si esegue utilizzando terreni unici per i micobatteri. Dopo si fa l'identificazione con pigmento e test biochimici. Il laboratorio dà la risposta definitiva dopo 40 gg.

Il clinico si aiuta con Rx, mantou e anamnesi.

*Prova della tubercolosi (mantoux)*

Si usa la PPD che è un derivato proteico ottenuto dalla tubercolina. Si somministra 0.1 ml intradermica. Dopo 24-72h se positiva compare eritema con indurimento. Si possono avere falsi negativi per infezione troppo profonda, immunosoppressione o errore nell'esecuzione del test. Risultano positivi tutti i guariti.

Terapia

Una volta i pazienti affetti venivano ricoverati per tempi lunghissimi nei sanatori.

Oggi si somministra isoniazide + rifampicina per via orale per circa 9 mesi. Nelle prime fasi del trattamento si preferisce avvolte aggiungere pirazinamide + streptomina o etambutolo.

La terapia comunque deve essere sempre cambiata.

### ***MICOBACTERIUM LEPRAE***

Causa la lebbra malattia molto diffusa in oriente. Attacca i tessuti molli e le cartilagini. » curabile con il Dapsone. In Italia pochi casi.

L'infezione avviene per contatto con ferite aperte o per via respiratoria. Ve ne sono di due tipi, una tubercoloide e una leprina.

La prima cosa che il paziente avverte è anestesia cutanea, seguono poi delle lesioni cutanee.

Il laboratorio può osservare al microscopio preparati con colorazione di Z.N. in quanto non lo si sa coltivare.

Un approccio farmacologico più aggressivo del dapsone è la rifampicina.

### ***MICOBACTERIUM AVIUM INTRACELLULARE***

Questo M. infetta normalmente i malati di AIDS.

## ENTEROBATTERI

Bastoncini, Gram<sup>-</sup>, asporigeni, mobili per la presenza di numerosi flagelli. Sono aerobi-anaerobi facoltativi e glucosio fermentanti, ossidasi negativi.

Essendo, Gram<sup>-</sup> presentano LPS, che funge da endotossina

Classificazione

- *Escherichia Coli*: da noi portato nel tubo digerente dove ci favorisce sintetizzando vitamine e creando il parco microbiotico. Ne esistono ceppi enteritogeni, che sono patogeni convenzionali.
- *Salmonella*: Typhi, Paratyphi A, B, C, Enteritidis
- *Shigella*: dysenteriae
- *Klebsiella* }  
- *Serratia* } K.E.S. aggressori importanti e acquisiscono geni per la  
farmaco-resistenza.
- *Enterobacter*

Alcuni di questi sono patogeni convenzionali cui *Salmonella* e *Shigella*. Se questi compaiono in un organismo compare sempre e comunque malattia.

Ci sono anche dei patogeni opportunisti che sono dentro di noi e che attaccano solo in determinati casi. Di questi abbiamo tutti gli altri enterobatteri tranne *salmonella* e *shigella*.

Patologie correlate

- Enteriti e gastroenteriti: da salmonelle, shigelle e *E.Coli* enteritogeni
- Infezioni extraintestinali: enterobatterio opportunisto quale il *Coli* esce dall'apparato digerente e si porta ad esempio nell'apparato urinario, ma non essendo questo il suo ambiente causa infezione. (pollachiuria, disuria, poca febbre)
- Infezioni sistemiche, da generalizzazione di infezioni con localizzazioni ectopiche. Sono dovute a:
  - *salmonella tifi*: comporta il Tifo,
  - *salmonella paratifi A, B, C*: comporta il paratifo.

Dei patogeni opportunisti si hanno infezioni sistemiche solo se essi oltrepassano la barriera e si portano nel sangue.

I patogeni convenzionali causano infezioni esogene, mentre i patogeni opportunisti causano infezioni endogene.

[NB: DIARREA: aumento di emissione feci, con consistenza diminuita.

DISSENTERIA: turba dell'alvo che si accompagna a emissione con le feci di pus e sangue]

Fattori di virulenza di alcuni Enterobatteri

1) capacità adesive dovute alle fimbrie; 2) endotossina del LPS; 3) Esotossine prodotte da alcuni ceppi → Ceppi ≠ → quadri clinici.

Tossine di E.Coli

- Enterotossina termostabile: iperstimola la guanilato ciclasi → ipersecrezione H<sub>2</sub>O ed elettroliti
- Enterotossina termolabile: stessa azione
- Tossina Shiga-like o Verotossina: azione simile alla Shiga toxin (stacca un'adenina dall'rRNA 28S eucariote, impedendone il legame al tRNA e dunque bloccando la sintesi proteica)

### **SALMONELLA**

» un genere che contiene più di 1000 specie. Di queste c'è ne sono 4 di cui salmonella tifi, e salmonella paratifi A, B, e C che causano sempre infezioni sistemiche.

salmonella typhi

Si introduce per via alimentare (acqua e cibi contaminati). Raggiunto l'intestino si lega alla mucosa intestinale creando un danno locale. Essa corrode la mucosa e mediante i vasi linfatici si porta ai linfonodi mesenterici, e se li supera si porta al sangue, dando batteriemia transitoria. Dopo viene catturata dagli organi del sistema reticolo endoteliale (fegato, milza, midollo, linfonodi). Qui si riproduce per poi originare una batteriemia persistente. Dal fegato può anche ritornare all'intestino mediante la bile. Colonizza la mucosa intestinale e crea delle lesioni a livello delle Placche di Peyer con ulcerazioni e perforazioni dando origine a emorragie intestinali e peritonite.

Il paziente sarà febbrile, sensorio abbassato, fortemente ipoteso (a causa dell'LPS), turbe dell'alvo (alternarsi di stipsi e diarrea). Si può giungere anche a morte.

Nel tempo con il miglioramento delle condizioni igieniche, le malattie da salmonella tifi sono andate diminuendo. Sono aumentate invece le malattie da **salmonelle inferiori (paratyphi)**, di cui uno si può infettare nello stesso modo della precedente, ma restano localizzate nell'apparato gastrointestinale

senza diventare sistemiche.

### **SHIGELLA**

Provoca dissenteria bacillare, con dolore (possono esserci diarree senza dolore).

Puó erodere la mucosa, ma non generalizza: l'erosione provoca invece endotossimia

Shiga-toxin

Agisce sulla sintesi proteica, staccando un'adenina da rRNA 28S eucariote, che di conseguenza non puó legare gli amminoacil-tRNA. Il blocco della sintesi proteica porta a morte la cellula.

Liberata in circolo la tossina danneggia l'endotelio vascolare, si determina dunque il rilascio di citochine che ne aumentano la permeabilit  alimentando nuovamente l'endotossimia, con conseguenti fenomeni coagulativi ed emorragici che possono dare coliti emorragiche e danni al SNC

Diagnosi di Salmonellosi

A secondo la fase ad esempio la salmonella si trova in vari punti, per prima comparre nell'apparato digerente, segue il sangue ed infine nelle urine.

Comunque cercheremo il batterio a secondo la sintomatologia.

Per identificare gli enterobatteri faremo l'API (le 21 prove biochimiche).

Per la salmonella se la ricerchiamo nelle feci, dobbiamo prima inibire la riproduzione di altri batteri, cio  fare l'arricchimento seminando il tutto nel "brodo selenite". Dopo che ho variato i rapporti numerici, seminer  in un terreno solido, dove questi saranno differenziati per vedere magari altri enterobatteri. Si usano i seguenti terreni:

- terreno di McConkey
- terreno S-S
- terreno al bismuto solfito.

Dopo cdi che si far  l'API ma senza distinguere quale delle 1000 specie  . Per saper qual   bisogna andare a ricercare l'antigene. Questi sono:

- antigene O,
- antigene flagellare
- antigene Vi

L'antigene O o H puó essere presente in pi  salmonelle ed ognuna puó avere pi  antigeni somatici O.

Kafmen ha analizzato le salmonella e vedere quale mosaico dell'antigene possiede il micrcobo. Per ogni mosaico ve ne   uno che determina

il gruppo. Bisogna cercare proprio all'inizio questo determinante del gruppo con anticorpi. Dopo di che si cercano gli altri antigeni somatici O. Dopo aver determinato l'antigene O e il mosaico può essere simile ad altre specie si cercano gli antigeni H.

Alla fine sarà un pool di antigeni che determina una determinata specie.

Nelle salmonellosi meglio provare inizialmente con Ampicillina. Non hanno grande farmacoresistenza

## GRAM NEGATIVI NON FERMENTANTI

Bastoncini, Gram<sup>-</sup>, Aerobi stretti, incapaci di fermentari, microrganismi ambientali, generalmente mobili.

*Pseudomonas Aeruginosa*

Il più frequente, tipico delle infezioni nosocomiali. Ha un'altissima versatilità metabolica, resistente a molti disinfettanti e antibiotici. » patogeno opportunisto, diffuso in suolo e acqua, presente in ambienti umidi ed ha poche esigenze metaboliche.

Infezioni

- Attacca facilmente ferite aperte (ferite chirurgiche o ustioni)
- Infezioni del tratto respiratorio, più facilmente nei bambini con fibrosi cistica.
- Infezioni dell'occhio (rapida progressione) e otiti.
- Infezioni tratto urinario, quasi esclusivamente in paziente ospedalizzato, in seguito a cateterismi o interventi

Generalizza facilmente, dando batteriemia ed endocarditi.

Fattori di virulenza

- **ADESIVITÀ:** data dai pili e dalla capsula, nella quale può avvenire (in particolare stimolata dalle alte concentrazioni di NaCl e K<sup>+</sup> nelle secrezioni dell'ammalato fibrosi cistica) la sintesi di alginato, che favorisce lo sviluppo di micro colonie mucose.
- **TOSSINE:** endotossina, esotossina A, leucocidina
- **ENZIMI:** elastasi (attiva una metallo-proteinasi della prodotta dalle cellule corneali che ne degrada i collagene di matrice e C3b, IgG e IgA), P-lipasi, esoenzima S e Proteasi

Farmaco resistenza

Sono molto resistenti ai farmaci in quanto le porine del *Pseudomonas* sono

molto piccole, quindi il farmaco ha difficoltà nel penetrare. Inoltre sintetizza molecole in grado di inattivare gli antibiotici.

#### Diagnosi

Cresce molto facilmente. Lo si riconosce molto facilmente in quanto ha un pigmento che tende al verde. Tra il genere *Pseudomonas* c'è anche la *Stenotrophomonas*.

#### Burkholderia Cepacia

Anch'essa colpisce gli ammalati di fibrosi cistica. A volte sovrapponendosi a *Pseudomonas aeruginosa*. L'infezione da *Burkholderia* coinciderebbe con l'inizio di un rapido declino delle condizioni del paziente. Essa avverrebbe tardivamente rispetto alle altre probabilmente perché questo microrganismo è capace di infettare soltanto un polmone gravemente danneggiato.

Ci sono altri Gm- non fermentanti ma sono molto poco frequenti.

## **BACILLI SPORIGENI AEROBI**

Bastoncini ambientali Gram+, sporigeni, sono aerobi, ma la spora la fanno in anaerobiosi. Sono molto diffusi, ma solo 2 possono causare malattie:

- *Bacillus Antracis*,
- *Bacillus Cereus*.

### ***BACILLUS ANTRACIS***

Capsulato. » una zoonosi che accidentalmente infetta l'uomo, causando il *carbonchio*, che in passato colpiva prevalentemente erano gli allevatori, i veterinari e chi lavora la lana.

» un patogeno a tutti gli effetti, che agisce prevalentemente grazie ad una tossina

#### Infezione

La forma più facile di infezione è il contatto, ma questa può avvenire anche per via inalatoria o per ingestione di alimenti infetti.

#### Per contatto

Ad oggi è raro. Se il patogeno entra a contatto con una parte di cute danneggiata si crea dapprima una macula (lesione piatta, solo visibile) pruriginosa, che in 1-2 gg diventa poi papula (rilevata), che in 2 giorni si ulcera,

con la comparsa anche di vescicole, Linfadenopatia regionale, e febbre.

La pustola si trasforma in "eschera" di colore scuro, che dopo un determinato tempo si stacca ed il paziente nell'80% dei casi guarisce. Nel 20% dei casi sviluppa invece una setticemia e la malattia diventa grave come se il contagio fosse avvenuto per inalazione e per ingestione.

#### Antrace inalatorio

Più raro, ma altamente letale. Il contagio per *inalazione* causa inizialmente una sintomatologia a carico del polmone (febbre, dispnea, dolore toracico, ma anche addominale e cefalea). Nel frattempo il *b.antracis* raggiunge i linfonodi mediastinici, da qui il sangue e segue la setticemia. Si ha Linfadenopatia massiva, Allarg. Mediastino, Insufficienza Respiratoria, Sudoraz. Profusa, Shock e meningite emorragica nel 50% dei casi.

#### Contagio per ingestione

» uguale alla forma inalatoria, sarà diversa la via di contagio e i linfonodi interessati saranno i mesenterici.

#### Tossina

L'antrace produce una potente tossina composta da tre parti e codificata da un plasmide.

- *Fattore edemigeno*: promuove l'edema, sregolando le pompe (aumenta cAMP).
- *Antigene protettivo*: porzione Binding che si lega ai recettori,
- *Fattore letale*: uccide monociti e macrofagi e stimola il rilascio di TNF $\alpha$  e IL-1 determinando lo shock.

Questa tossina agisce sui centri respiratori, causa la morte per grave insufficienza respiratoria.

#### Diagnosi

Si lavora su sangue se è presente la setticemia, altrimenti si lavora su essudato dalla pustola. Si fa un'emocoltura. Per arrivare alla diagnosi si faranno poche prove biochimiche. Questo naturalmente in clinica. In caso di bio-terrorismo prima si uccide il M. e dopo mediante prove di amplificazione genica si dimostra la presenza del *B. Antracidis*.

### **BACILLUS CEREUS**

» una delle possibili cause di tossinfezione alimentare. Produce due tossine una emetica e l'altra diarroica, anche se i due sintomi coesistono ne prevale uno. Se la sintomatologia compare dopo 3-4h è stafilococco e non *Bacillus Cereus*. Esso ha un tempo di incubazione più lungo all'incirca di 20h.

Una delle due tossine è stabile al calore, l'altra no, quindi anche cucinando i cibi se è presente la tossina questa permane.

#### Diagnosi

Si mette un sistema multienzimatico dove in un pozzetto vi sono anticorpi anti tossina emetica, nell'altro anticorpi anti tossina diarroica.

### **ALTRI BACILLI**

Di norma non patogeni per l'uomo. Ma in alcuni casi si sono osservate malattie proprio a causa di questi altri bacilli. Questi in alcuni casi hanno tutti i geni per la farmacoresistenza e quindi venendo a contatto con altri M. li cedono, quindi rendono molto patogeni altri M.

#### Terapia

Per l'antrace → ciprofloxacina (chinolonico) la terapia va iniziata molto precocemente

### NEISSERIE

Cocchi, Gram-, Aerobi e anaerobi facoltativi, asporigeni e immobili, generalmente capsulati, ossidasi positivi, posseggono fimbrie. Si dispongono a coppie che assomigliano a chicchi di caffè.

C'è ne sono diverse specie, ma le più importanti sono:

- *Neisseria Meningitidis*,
- *Neisseria Gonorrhoeae*

Le altre sono patogeni opportunisti.

### **NEISSERIA GONORRHOEAE**

Responsabile principalmente di uretriti, provoca quadri diversi nell'uomo e nella donna. Il contagio è per via sessuale.

*Nell'uomo* il quadro clinico è più grave. Il batterio colonizza l'epitelio colonnare dell'uretra, causando dopo 2-3 giorni un'uretrite fortemente purulenta: "scolo", ovvero abbondante fuoriscita di pus dall'uretra e disuria. Le rare complicanze nel maschio sono: orchite, meningite, endocarditi e artriti.

*Nella donna* l'infezione paucisintomatica: oltre all'uretrite meno grave (quasi solo disuria) causa anche la cervicite con perdite vaginali e dolori addominali. Può causare trascuratezza della malattia, quindi la malattia può progredire: a livello locale può determinare salpingite che cicatrizzando può occludere il lume della tuba ovarica rendendo sterile la donna, oltre ad accessi tubo ovarici e malattia infiammatoria della pelvi; può anche diventare sistemica (se trascurata molto) determinando artrite settica, e raramente endocarditi e meningiti.

*In età prepuberale* si può avere un contagio extrasessuale, da condizioni igieniche carenti. O per via sessuale da violenze sessuali. Più o meno gli stessi sintomi, ma nelle donne la salpingite comporta più spesso la chiusura del lume tubarico

*Nel neonato* l'infezione al momento del parto pu' dare oftalmie (si pu' prevenire con il collirio subito dopo il parto).

### ***NISSERIA MENINGITIDIS o meningococco***

Provoca la meningite prurulenta.

La meningite non è molto diffusa. » molto pi' frequente nei bambini. sono rare nei primi 6 mesi di vita, dopodichÈ si ha una diminuzione degli anticorpi fino a 24 mesi. A 20 anni c'è una facile ripresa della meningite specialmente nei maschi e si pensa che questo era dovuto al servizio militare.

Sintomi dell'infezione da meningococco: febbre alta, cefalea, rigidità nucale, nausea e vomito, esantema maculo-papulare, porpora (lesioni cutanee necrotico-emorragiche) e sindrome Waterhouse-Friederichsen (descritta in seguito di solito porta a morte)

Il contagio è inter-umano, di solito da un portatore, raramente da chi è già ammalato.

Il primo impianto è a livello naso-faringeo, qui il meningococco (se c'è un concomitante calo del s.i.) comincia a moltiplicarsi creando danni localmente. Attraverso i vasi linfatici raggiungerà il sangue (già a questo punto pu' indurre sindrome W-F) e da qui le meningi.

#### *Sindrome Waterhouse-Friederichsen*

Questi microrganismi si lisano facilmente liberando un'eccessiva quantità di LPS, oppure ne producono in eccesso. L'endotossina pu' determinare vasodilatazione e shock, oppure causa coagulazione vascolare disseminata, che facilmente porta a infarto della ghiandola surrenale, dalla cui necrosi pu' determinarsi sia ipocorticosurrenalismo che ipercorticosurrenalismo (la lisi delle cellule determina il rilascio massivo degli ormoni da esse prodotte. » spesso letale.

La meningite pu' essere causata anche da:

- Streptococcus Pneumoniae,
- Haemophilus influenzae
- Criptococco neoformans (fungo che attacca i soli affetti da HIV)

#### Diagnosi

Si esamina il Liquor. (L'infezione batterica dà quasi sempre un liquor torbido)

Si divide in due aliquote, aliquota A e aliquota B.

- Aliquota A: bacter. » il procedimento che si fa con tutte le emocolture. Si coltiva in terreno liquido, se presenti microrganismi liberano CO<sub>2</sub>. La cui presenza è rilevata da sostanze che lo legano.
- Aliquota B: si centrifuga. Ricercheremo nel sovrinatante gli Antigeni in

quanto il 98% dei batteri che provocano la meningite sono capsulati e quindi spandono materiale antigenico. Prelevando il sedimento possiamo fare un esame microscopico (importante: meningococco = coppie di batteri nel liquor; pneumococco = batteri dentro cellule polimorfo nucleate) o un esame colturale.

Sia per il meningococco che per la gonorrea l'esame colturale si fa in Agar cioccolato e si identificano successivamente mediante test di agglutinazione o biochimici.

## SPIROCHETE

Hanno una forma spiraliforme, sono mobili in quanto hanno fibre contrattili (actina) lungo lo spazio periplasmatico che ancorate alle due estremità, mediante contrazione ne determinano la variazione del passo della spira.

Questi microrganismi non si colorano mediante il metodo di Gram ma in realtà la parete è quella dei Gram<sup>+</sup>, pertanto hanno l'endotossina del LPS

A questa famiglia appartengono:

- *genere treponema*: molto piccoli, osservabili in campo scuro o solo dopo impregnazione argentea. Anaerobi obbligati, non coltivabili in vitro ma solo in vivo.
- *genere borrelia*: dimensioni maggiori, tollerano l'O<sub>2</sub> e sono coltivabili in vitro ma lenta replicazione
- *leptospiracee*: piccoli, dunque di difficile osservazione, aerobi e coltivabili

## TREPONEMI

Ve ne sono diverse specie, ma la più importante è il *treponema pallidum*. l'agente eziologico della *sifilide*

Esso causa la sifilide che è una malattia sessualmente trasmessa. Questa malattia ha subito un calo in quanto con l'avvento dell'AIDS si è iniziato a fare sesso protetto. Essa si trasmette soltanto ed esclusivamente per via sessuale. L'unica eccezione è data dalla trasmissione madre-feto (non perinatale) e si chiama *sifilide congenita*.

Il *Treponema* penetra attraverso le mucose genitali e dopo 10-15 gg si sviluppa il *sifiloma primario*, che guarisce apparentemente dopo qualche giorno. Il sifiloma primario si manifesta sotto forma di *papula*, al cui interno si forma una vescicola che si rompe e forma un'ulcera. Essa presenta un fondo duro, indolente e vi è sempre una linfadenite regionale. Va incontro ad apparente guarigione spontaneamente. Nel frattempo il *treponema* si diffonde ovunque.

Dopo 2-3 mesi inizia la *sifilide secondaria*. Questa va avanti per circa 10 anni, si può avere guarigione (30%), sifilide secondaria latente (pause sintomatiche con segni non periodici, 30%) o si può arrivare alla *sifilide terziaria*.

Nella secondaria si ha la comparsa di un *esantema* cutaneo (eruzione maculo papulosa) che coinvolge anche palme di piedi e mani, inoltre avviene anche la diffusione a livello delle mucose di molti organi, abbiamo anche malessere, tosse produttiva, anoressia, faringo-tonsillite, cefalea e linfo-adenite generalizzata. Nelle fasi primaria e secondaria c'è il maggior rischio di contagio (le lesioni della fase secondaria sono ricche di treponemi).

La lesione prende il nome di *gomma*. Essa è una lesione granulomatosa che va incontro a necrosi colliquative cioè si dà luogo ad una sostanza vischiosa e collosa. Mediante l'intervento dei fibroblasti si ha la guarigione ma con la formazione di cicatrici deformanti. Queste cicatrici sono la causa della sifilide terziaria, che sono l'effetto della guarigione e si manifestano ovunque. Possiamo avere lesioni cardiovascolari (vasa vasorum, aneurismi ed insufficienze aortiche). Si hanno dei danni anche al sistema nervoso non si ha un quadro clinico specifico, ma si possono avere dei problemi psichiatrici, la più caratteristica è la *tabe dorsale* in cui si determina una cicatrice comprimente nelle meningi che rivestono l'uscita dei nervi, provocando dolori lancinanti, che spesso, in passato portavano i pazienti al suicidio.

La sifilide congenita trasmessa dalla madre al feto può dare esito a aborto spontaneo o a gravi malformazioni all'apparato scheletrico. Il neonato ha il cranio deformato e la mandibola corta o il palato è modificato ad ogiva. Si hanno problemi a livello neurologico spesso con sordità centrale e questo accompagna il mutismo. Si hanno anche complicanze cardiache che limitano il corso della vita.

## Diagnosi

Non si può fare la diagnosi diretta in quanto il T. non si può coltivare. Tutto si fonda sulla diagnosi indiretta. Ci sono due test:

- prove treponemiche: l'antigene è il treponema
- prove non treponemiche: l'antigene è la cardiolipina che pure non centrando nulla con il treponema ma che si lega allo stesso anticorpo.

## Prove treponemiche

- *TPHA* (treponema pallidum emo agglutinazione) Si utilizzano GR ricoperti dall'Ag treponemico.
- *FTA-ABS* su una piastra con tanti pozzetti con l'Ag treponemico, poi si aggiunge il siero del paziente a diverse diluizioni, segue lavaggio degli Ab non legati e aggiunta di anti-Ab fluoresciniti.
- *TPI*: è una prova di immobilizzazione, si mette su un vetrino una sospensione del siero con anticorpi. Se si legano anticorpi e treponemi questi perdono la motilità.

## Prove non treponemiche

- *Reazione di Wasserman*: è una reazione di fissazione del complemento. Metto la cardiolipina che si lega all'anticorpo se c'è. Dopo si aggiunge il complemento che si lega al complesso immune se formato. Dopo aggiungo GR ma che non vengono lisati se già il complemento è stato legato.
- *VDRL*: è una prova di flocculazione, la cardiolipina nel siero determina la formazione di fiocchi visibili al vetrino.

- RPR: variante della precedente.

Le prove non treponemiche non sempre sono esatte ma si usano in quanto se la sifilide è stata presa 30 anni fa, la prova del TPHA sarà sempre positiva, mentre se il soggetto è guarito la prova indiretta sarà negativa.

#### Terapia

Non bisogna utilizzare una terapia massiva, in quanto un'eccessiva lisi dei treponemi comporterebbe una grande liberazione di LPS, quindi meglio agire molto lentamente. Si usa penicillina.

## BORRELIA

Due sono le specie più importanti: la *Borrelia Buldoferi* e la *Borrelia Recurrentis*.

» una zoonosi che necessita di un vettore che per la *Buldoferi* è la zecca (in Italia è molto facile prenderla nelle alpi e in carso).

#### *Borrelia recurrentis*

Molto diffusa negli USA. Causa la febbre ricorrente. Inizialmente si ha febbre alta, rigidità nucale (meningite), turbe del sensorio. Dopo alcuni gg si sta meglio. Nel giro di qualche giorno ricompare la sintomatologia e questo alternarsi continua fino a quanto non si fa diagnosi. Si somministra *tetraciclina* (farmaco inibitore della sintesi proteica. Appartiene alla famiglia dei Macrolidi. Questo farmaco lo si usa sempre meno a causa della farmaco-resistenza sviluppata dai batteri in quanto viene usato negli allevamenti animali) e si guarisce definitivamente.

Questo accade in quanto dopo che il Microrganismo ha aggredito l'ospite muta geneticamente, in maniera tale che il S.I. non riesce a riconoscerlo e quindi non viene mai debellato del tutto.

#### *Borrelia Buldoferi*

Provoca il morbo di Lyme. I sintomi sono estremamente polimorfi: il più ricorrente (91% dei casi) è l'eritema cronico migrante (nel punto di inoculazione si forma un eritema che si allarga lasciando al centro una zona chiara e ai bordi rossa); meno ricorrenti ma frequenti (50-60%) sono artriti e mialgie; possono esserci anche disturbi neurologici: paralisi oculo-motore, meningite. Il morso di zecca può inoltre portare alla TBE (tick borne encefalitis), che può essere mortale.

#### Diagnosi

L'esame colturale dà scarsi risultati sia per la *recurrentis* che per la *buldoferi*.

L'esame sierologico (indiretto) attraverso la ricerca di Ab dà buoni risultati per la *B.Buldoferi*, ma è del tutto inutile nella *recurrentis* per la quale l'esame migliore è quello microscopico, esaminando uno striscio di sangue periferico.

Nel cercare gli anticorpi la prova più efficace è la prova di immuno-fluorescenza. Si possono utilizzare sistemi multi-enzimatici o meccanismi di

biologia molecolare.

## LEPTOSPIRE

Sono dei microrganismi che contaminano le acque, e vengono messi nell'ambiente con le urine dei ratti (vivono nel tubulo renale del ratto senza provocare a questo grossi danni). L'uomo si infetta anche solo bagnandosi nelle acque infette in quanto le *L.* penetrano attraverso la cute grazie alla loro capacità di penetrazione attiva.

La più importante è la ***leptospira interrogans*** che può determinare o sintomatologia simil-influenzale o più grave con la *leptospira emorragica* che porta al morbo di Weil, detto ittero-emorragico. Questo comporta gravi danni epatici, comparsa di ittero e grave deficit della coagulazione e quindi di conseguenza si ha la comparsa di emorragie, dovute anche ai danni all'endotelio vascolare derivanti dalla capacità di penetrazione attiva del batterio. Se infine si arriva all'insufficienza renale che è altamente letale.

Le leptospire hanno un passo della spira più piccolo, cresce poco e per diagnosticarla l'unica cosa da fare è l'esame microscopico data anche la difficoltà della ricerca di Ab.

» sensibile ai  $\beta$ - Lattamici.

## CLOSTRIDI

Bastoncini Gram+ (ma spesso gram incerto), anaerobi stretti, sporigeni e non tutti mobili. Normalmente presenti in suolo e in intestino dei grandi erbivori. La spora ha una caratteristica forma a drum stick.

Ne esistono diverse specie, ma le più importanti che interessano l'uomo sono: Clostridium Tetani, Clostridium Botulinum, Clostridium Perfringes, Clostridium Difficile.

### CLOSTRIDIUM TETANI

» l'agente eziologico del Tetano, grave e mortale, raro anche grazie al vaccino. Comporta *paralisi spastica*. Il C.T. risiede nell'apparato gastroenterico dei grossi erbivori. Viene emesso nell'ambiente con le feci, qui trovandosi in un ambiente aerobico diventa spora.

Per entrare devono esserci ferite lacerate contuse (interruzione del continuum della cute con un taglio, una ferita "sporca") per germinare deve essere in condizioni di anaerobiosi (una rottura locale dei vasi può diminuire l'apporto di O<sub>2</sub>, oppure è favorita dalla compresenza di batteri aerobi che consumano O<sub>2</sub>). Ritornato alla forma vegetativa, di per sé stesso è poco aggressivo e non generalizza, ma inizia a produrre la *Tossina Tetanica*.

Questa può diffondersi (difficile) per via ematica, oppure (più facile) reagisce

con le sinapsi dei motoneuroni e risalendo il nervo si porta agli interneuroni inibitori che hanno il compito di modulare l'attività dei motoneuroni dei mm antagonisti. Causa così la paralisi perché alla contrazione del muscolo agonista non è correlato il rilasciamento dell'antagonista. La tossina è una zinco-proteasi che rompe le molecole correlate al rilascio dei mediatori inibitori a livello delle sinapsi.

Il paziente muore in quanto si tetanizzano anche i muscoli respiratori. In questo modo il paziente non ha più la possibilità di espandere i diametri costali.

#### Terapia

La prima cosa da fare è bloccare l'esotossina tetanica mediante *siero antitetanico*. Trattasi della somministrazione ad alto titolo di IgG specifiche per la tossina tetanica. Le IgG legano e inattivano solo la tossina libera quindi non migliorano il quadro clinico ma non ne permettono un suo peggioramento. Al paziente inoltre si somministrano Miorilassanti e si fa respirare mediante respirazione artificiale. Un'altra cosa da fare è la pulizia chirurgica della ferita infetta.

Per l'eliminazione del C.T. somministriamo *penicilline*.

Vi è anche il vaccino di ottima efficacia (usa un tossoide), ma bisogna fare il richiamo ogni 10 anni.

### **CLOSTRIDIUM BOTULINUM**

Produce la *tossina botulinica neurotrofa*, una zinco-proteasi che va ad agire a livello della placca neuro-muscolare, bloccando le molecole che intervengono nella liberazione dell'acetilcolina, provocando *paralisi flaccida*. Ci si può infettare prevalentemente per via alimentare, mediante l'ingestione di cibi conservati privi di O<sub>2</sub>, in questi è più probabile ingerire non il battere bensì la tossina. Il paziente spesso muore per complicanze respiratorie, in quanto con c'è la fa a contrare i muscoli intercostali e diaframma. Il trattamento è lo stesso del C. Tetani.

Risulta inutile l'uso di antibiotici, si somministra un pool di anticorpi per l'immunoprofilassi.

### **CLOSTRIDIUM PERFRINGES**

Questo può causare tre tipi di malattie, che sono:

- lesioni a livello cutaneo con *gangrena gassosa*
- tossinfezioni alimentari: la tossina enterotossica causa vasodilatazione e aumento della peristalsi a livello del tenue.
- enterite necrosante: la tossina può provocare lesioni e necrosi nella mucosa intestinale.

La *gangrena gassosa* può essere causata dall'introduzione del C.P. a causa di una lesione traumatica. Per prima porta ad un'infezione che rimane nel sottocutaneo, la *cellulite anaerobica*, ma se l'infezione si estende anche ai piani muscolari causa *mionecrosi* e tossiemia (anche P-lipasi), che determinano una compromissione generale (la tossina determina liberazione in circolo di una grande quantità di elementi cellulari che si portano

ad intasare il rene).

La gangrena gassosa è data dalla produzione di gas da parte del C.P. che si concentra nei tessuti. In alcuni casi bisogna ricorrere ad un'amputazione larga dell'arto interessato.

### CLOSTRIDIUM DIFFICILE

Questo normalmente è presente in piccolo numero a livello dell'intestino crasso. Se per vari motivi quali ad esempio terapie antibiotiche viene meno l'azione limitante degli altri batteri, il c.difficile può moltiplicarsi e produrre la sua tossina, che causa la *colite pseudomembranosa*: la pseudomembrana è data da leucociti, fibrina e cellule necrotiche, mentre i sintomi sono diarrea, crampi addominali, febbre e leucocitosi.

**Diagnosi:** ricerca della tossina nelle feci, o analisi indiretta per agglutinazione. Il C.D. può essere coltivato in terreni di coltura all'uovo, in quanto essendoci molta lecitina, questa viene rotta dalla P-lipasi.

**Terapia:** antibiotici come la *Vancomicina* (blocca il legame DAla-DAla con il peptide carrier) e *Metronidazolo*.

### STAFILOCOCCI

Sono dei *cocchi* Gm +, generalmente si riuniscono in ammassi irregolari in quanto non hanno piani di divisione paralleli tra di loro; immobili, asporigeni e privi di capsula evidente (alcuni la producono ma non riescono a organizzarla → si parla di glicocalice). Sono anche *alofili* vale a dire resistenti al sale (NaCl fino 8-8,5%). Sono aerobi e anaerobi facoltativi. Sono *catalasi positivi*, è proprio mediante questo enzima che noi gli identifichiamo dagli strepto.

Gli stafilococchi sono moltissimi. Originariamente furono identificati: S. Aureus e S. Epidermidis. Nel tempo se ne sono scoperte molte altre specie. Il patogeno per eccellenza è l'Aureus. L'Epidermidis oggi provoca infezioni opportunistiche (è caratteristico delle infezioni ospedaliere, perché qui trova modo di penetrare sotto la cute).

La differenza tra l'Aureus e gli altri sta nella prova della *coagulasi*, in quanto solo l'Aureus ne risulta positivo. Per questo noi distinguiamo gli stafilococchi in: S.Aureus (coagulasi<sup>+</sup>) e Stafilococchi Coagulasi<sup>-</sup> (cui appartiene S.Epidermidis).

## STAFFILOCOCCUS AUREUS

Cocco gram<sup>+</sup>. Possiede la proteina A che è la sua arma di difesa preferenziale che gli consente di legare le Ig al contrario in modo da non poter essere fagocitato il complesso Ag-Ab

Questo microrganismo emette una serie di molecole quali gli *esoenzimi* che gli consentono di creare un danno indiretto in maniera tale da rimanere nell'organismo. Successivamente mediante la produzione di *esotossine* causa un fattore di danno diretto

## Esoenzimi

Questi sono:

- *coagulasi*: ne ha due, una è liberata all'esterno e può causare Coagulazione Intravascolare Disseminata (CID); una è legata alla polimerizza il fibrinogeno in fibrina intorno al batterio in maniera tale che il sistema immunitario non riesce a vederlo. In questo modo esso attraverso il sangue può portarsi in circolo e creare infezione.
- *Stafilochinasi*: ha attività trombolitica opposta alla coagulasi. Quest'enzima viene adoperato per lisare il coagulo formato dalla coagulasi attorno ad esso e poter così uscire.
- *Ialuronidasi*: depolimerizza l'acido ialuronico nei tessuti, favorendo così la diffusione diretta.
- *DNAasi*: depolimerizza il DNA fluidificando il Pus (PMN) e potendo diffondere più facilmente.
- *Catalasi*: rompe le molecole di H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> prodotte dal sistema perossidasi dei fagociti. In questo modo può sopravvivere all'interno del fagocita.
- *Lipasi*: depolimerizza i lipidi-antibatterici delle ghiandole sebacee.

## Esotossine

Queste sono:

- *emolisina*(sottogruppi  $\alpha, \beta, \gamma, \delta$ ): riesce a lisare il GR ma crea danni anche ad altre cellule.
- *Leucocidina*: Questa agisce sulle membrane citoplasmatiche dei leucociti, aumentano la permeabilità al K in maniera tale che la cellula vada incontro ad autodigestione per rottura delle membrane lisosomiali.
- *Tossine pirogene*: determinano la febbre alta.

Alcuni ceppi producono anche: *enterotossina*, *Tossina epidermolitica*, *tossina per shock tossico*.

## Malattie

Esso è una delle cause principali di infezioni ospedaliere. Il primo bersaglio è la cute e il sottocute.

- e. Causa il foruncolo a carico dei bulbi piliferi, che può diventare ascesso.
- f. Può portare ad *impetigine* che è la comparsa di lesioni singole che tendono a confluire.
- g. Può infettare le ferite chirurgiche o da ustioni.

Se generalizza la *Setticemia* può portare ad infezioni metastatiche come endocarditi, meningiti, polmoniti e osteomielite.

Si puó inoltre avere da alcuni ceppi particolari quadri tossici:

- *intossicazione alimentare (da enterotossina)*: ingerendo qualcosa che contiene la tossina, dopo poche ore compare la sintomatologia che scompare dopo circa 24h. La tossina agisce sul centro del vomito provocando nausea e vomito; inoltre turba la peristalsi intestinale determinando contrazioni contemporanee anche a valle della zona contraentesi, si ha cosí diarrea crampiforme. Il microrganismo puó arrivare nei cibi dal nasofaringe di chi prepara i cibi. La cottura lo uccide ma la tossina è termostabile.
- *Sindrome della cute scottata o di Ritter (da tossina epidermolitica)*: la tossina epidermolitica, rompe desmosomi ed emidesmosomi (strato spinoso della cute). Nel mezzo della cute si forma una vescicola che ne causa il distacco dell'epidermide e necrosi. La perdita della barriera cutanea favorisce ulteriori infezioni.
- *Sindrome dello shock tossico*: la tossina non è prodotta dai ceppi presenti Italia. Provoca febbre, vomito, diarrea, rush cutaneo, grave ipotensione ed infine morte. I casi piú importanti hanno sono stati negli USA, dove l'uso di assorbenti interni ha in alcune donne con precedente infezione ha dato un terreno di cultura ideale (ristagno di sangue) per s.Aureus.

### **STAFILOCOCCUS EPIDERMIDIS**

I coagulasi negativi al 70% *Epidermidis*, una volta non erano patogeni adesso sí. Questi batteri sono presenti a livello cutaneo e sintetizzano un'enorme quantitá di glicocalice che serve come collante e per nascondersi. Essi causano setticemie da corpi estranei aderendo per esempio a un catetere venoso grazie al glicocalice.

Diagnosi degli stafilococchi

Identificata la presenza di cocci gram<sup>+</sup> si procede per esclusione come segue:

- Catalasi: - = streptococchi; + = micrococchi
- Fermentazione del glucosio: - = micrococchi; + = stafilococchi
- Lo stafilococco se ha un pigmento e metabolizza del mannitolo è *Aureus*. Si prova anche la coagulasi: + = Aureus; - = Stafilococchi coagulasi negativa (70% epidermidis).
- 

### **MICOPLASMI**

Piccoli e privi di parete cellulare (quindi non curabili con  $\beta$ -lattamici). Hanno grande quantitá di steroli nella membrana citoplasmatica. Sono aerobi/anaerobi facoltativi. La specie piú importante è quella il *mycoplasma pneumoniae* che

causa la *polmonite atipica primaria*. Si ha anche: m.Uralyticum e m.Hominis.

### **MICOPLASMA PNEUMONIAE**

Causa la polmonite atipica primaria. Si chiama atipica in quanto differisce da tutte le altre. Il contagio si ha per inalazione e ha 2-3 settimane di incubazione. Essa colpisce l'interstizio e non l'alveolo. » meno febbrile, ha esordio lento, con febbre, cefalea e malessere, seguono poi i sintomi respiratori con tosse secca e non produttiva, ma molto grave e forte. La malattia si risolve in 2-4 settimane, ma il paziente in seguito presenta una profonda astenia. Si può curare con i macrolidi (bloccanti la sintesi proteica)

Diagnosi laboratorio

Per questa ricerca la richiesta deve essere espressa. Il micoplasma è difficile da coltivare, il terreno dovrà contenere tanti steroli, situati nel siero di cavallo. Aggiungiamo anche della penicillina per bloccare la crescita di altri batteri.

I micoplasmi sono tanti quindi bisogna utilizzare diverse tecniche per dire che sono pneumoniae. Vengono utilizzati maggiormente anticorpi. Essendo lunga la diagnosi diretta conviene utilizzare quella indiretta. Si utilizzano GR ricoperti di antigeni del pneumoniae, se ci sono anticorpi i GR si agglutinano. Se è sicuramente polmonite atipica primaria compaiono anche le crioagglutinine, cioè gli anticorpi sono in grado di agglutinare a 4 °C.

### **CLAMIDIE**

Di forma tondeggianti, difficilmente colorabili con il Gram o considerate Gram-. Sono parassiti intracellulari obbligati, in quanto dipendono dalla cellula per l'ATP, essendo privi meccanismo di sintesi (ne deriva che non sono coltivabili se non in culture cellulari). Le specie più significative per l'uomo sono 2 e sono: Clamidia Tracomatis e Clamidia Psittacei.

Le clamidie esistono in due forme: una è il corpo elementare, che è piccolo, compatto e denso con involucro robusto ed è la forma in grado di sopravvivere fuori dalla cellula, l'altra è quella che assume una volta penetrata nella cellula, il corpo reticolare di dimensioni maggiori e meno robusto.

Il corpo elementare dentro la cellula aumenta di volume e diminuisce di densità, diventa corpo reticolare che si moltiplica per scissione binaria. Questo torna ad essere corpo elementare, acquisisce maggior rigidità e uccide la cellula ospite per andare ad infettarne altre.

### **CLAMIDIA TRACOMATIS**

Può provocare diverse infezioni. Essenzialmente ha tre organi bersaglio, che sono:

- 5) *occhio* dove puÚ causare tracoma e congiuntivite da inclusi. Il tracoma è causa frequente di cecità nei paesi poveri. Nell'occhio accade che la palpebra non è piú liscia e va ad abradere la cornea.
- 6) *polmone*: puÚ provocare polmoniti interstiziali nel neonato simile alla polmonite atipica del micoplasma.
- 7) *apparato genitale*: qui puÚ causare diverse patologie.
  - uretrite non-gonococcica: causa disuria e perdite chiare e filanti (gel), assenza di pus
  - uretrite post-gonococcica: puÚ esserci contemporanea infezione da gonococco e clamidia. Curata la prima, sopravvive la seconda.
  - Si possono avere anche infezioni dell'apparato genitale femminile che risalgono oltre le prime parti dell'apparato genitale.
  - Ci sono ceppi particolari che provocano il *linfogranuloma venereo* (non nei nostri climi). » un'infezione venerea con sintomatologia diversa, aumentano di volume i linfonodi locali che successivamente fistolizzano.

#### **CLAMIDIE PSITTACEI**

Provoca polmonite atipica primaria piú grave delle altre e si prende dagli uccelli domestici e si chiama "ornitosi".

#### Diagnosi

**DIRETTA:** Si puÚ fare un esame colturale in colture cellulari in vitro (→ laboratorio virologia). Nella cellula si formano inclusioni ricche di glicogeno. PuÚ anche seguire test a immuno-fluorescenza, usando anticorpi monoclonali contro i corpi elementari.

**INDIRETTA:** ricercare anticorpi. Il piú usato è la fissazione del complemento.

#### **RICKETTSIE**

Coccobacilli pleomorfi a cattiva colorazione di Gram(-). Parassiti endocellulari obbligati che si moltiplicano per scissione binaria. Causano due gruppi di malattie accomunate dalla necessità di un vettore per infettare l'uomo:

- 5) **DERMOTIFO:** tifo petecchiale e tifo murino.
- 6) **Gruppo della FEBBRE MACULARE:** principalmente febbre bottonosa. Presente in Italia (Sud, Isole, Marche, Liguria) ma raramente diagnosticata.

Prima vi è il morso del vettore, dopo 6gg il soggetto accusa una lesione necrotica nel punto di inoculazione. Compare febbre molto alta dalla durata di 8 gg, (con cefalea e mialgia). Si ha anche la comparsa di esantema (dopo

4-5gg) che passa attraverso due fasi, prima è una macula, successivamente diventa una papula che inizialmente è di colore roseo dopo passa a rosso vinoso. Questo esantema passa dagli arti inferiori al tronco e poi agli arti superiori.

Il tifo petecchiale e la febbre bottonosa sono accomunati in quanto portano ad infiammazione a livello vascolare con vasculite (trofismo delle Rickettsie per cell.e endoteliali). Nelle forme piú gravi viene danneggiata la microcircolazione specialmente del SNC e si puó determinare emorragia cerebrale. In questo modo il tifo ci spiega la meningite e la successiva morte del paziente.

### **COXIELLA BURNETTI**

Si pensava che fosse una Rickettsia, ma non lo è. Provoca la *febbre Q* che causa la polmonite interstiziale molto pesante. L'incubazione dura 1 – 3 settimane.

Diagnosi

Le Rickettsie si coltivano con inoculazione in uovo embrionato o in colture cellulari, ma il metodo è difficile e pericoloso. Si esegue quindi la diagnosi indiretta, utilizzando la reazione di Weil-Felix. non si usa la Rickettsia come antigene ma si usano ceppi di proteus, che vengono agglutinati da anticorpi contro le Rickettsie. Per la febbre Q non si esegue questa tecnica ma la fissazione del complemento.

### **LEGIONELLE**

Piccoli bastoncini Gram<sup>-</sup>, asporigeni, non sempre mobili.

Questi causavano una malattia che colpiva i legionari del Vietnam. Comporta la presenza di mialgie, cefalea, febbre, tosse secca, che puó diventare secretiva. Si hanno infiltrati interstiziali con tendenza alla progressione a alla confluenza. Si formano dei noduli.

La mortalità è del 15%. Questi microorganismi per moltiplicarsi necessitano cisteina, Sali di ferro e carbone (questi sono spesso presenti nell'acqua di condensa dei condizionatori).

I macrofagi non attaccano questo batterio ma vi si spiralizzano attorno, finché la Legionella non uccide il macrofago. Essi si portano nell'interstizio polmonare.

Non è trasmissibile da uomo a uomo. Ma le cause possono essere epidemiche da contaminazione delle acque.

Diagnosi

- indiretta: questa è la piú frequente e si fa con tecniche di immunofluorescenza e fissazione del complemento.

- Diretta: l'unico modo che dà la certezza di trovarla è la biopsia. Dopo si può fare un esame microscopico diretto o meglio ancora a fluorescenza, oppure fare un esame colturale mettendo dentro carbone, aminoacidi e altre sostanze presenti nell'aria. Per l'identificazione non si fanno prove biochimiche ma test immunologici.

#### Terapia

Si usano chinolonici e macrolidi

## CORINEBATTERI

Era l'agente eziologico della difterite, debellata in Italia grazie al vaccino (contro la tossina).

Bastoncini a morfologia "clavata", Gram<sup>+</sup>, immobili e asporigeni, privi di capsula. Le colonie si dispongono "a via palizzata" o a "ideogrammi cinesi". Di per sé poco aggressivi, è la tossina ad agire principalmente.

### **CORINEBACTERIUM DIFTERIAE**

*Tossina*: si tratta di una proteina di 62kDa, espressione di un gene fagico (che dunque il batterio può perdere), è composta da due sub-unità tenute insieme da un ponte disolfuro, è pantropa ed agisce sulla sintesi proteica, dunque predilige i tessuti ad attiva sintesi proteica.

*Malattia*: il malato o il portatore sano (che la porta nella mucosa orale) può contagiare per via aerea (solo nei climi caldi anche per contatto, poiché l'abbondante sudorazione macera la pelle), e il batterio si instaura nel nasofaringe e nelle tonsille. Inizia la produzione della tossina, che localmente induce la formazione di pseudomembrane (nel bambino piccolo possono ostruire le vie aeree). Inoltre se si diffonde per via ematica ha effetti pesanti su fegato, rene, miocardio, surrene e sistema nervoso (particolarmente periferico).

#### Diagnosi

Al microscopio è possibile avere un falso +, perché esistono altri corinebatteri, normalmente presenti nel cavo orale. Su richiesta espressa si esegue esame colturale in terreni di Loeffler e Macheod. Seguono prove in vitro di tossigenesi, inserendo sulla piastra una banda di Ab contro la tossina, e perpendicolare a questa una banda di corinebatterio. Se produce la tossina, all'incrocio ci sarà precipitazione. A seconda poi del grado di tossigenesi saranno più o meno grandi i "baffi di precipitazione" lungo la banda dell'Ab

## BORDETELLE

Coccobacilli Gram<sup>-</sup>, sono asporigeni, immobili e capsulati. Molto fragili al di fuori del corpo umano. Questo ne condiziona il contagio: solo per via aerea. Si hanno tre specie, che sono:

- Bordetella Pertussis
- Bordetella Parapertussis,
- Bordetella Bronchiseptica

### **BORDETELLA PERTUSSIS**

» una malattia grave perché oltre a causare tosse e accessi, causa difficoltà inspiratoria con anche possibile edema. Il contagio avviene solo per via inalatoria. L'incubazione dura circa 10 gg ed è asintomatica. Nel frattempo si moltiplica. Seguono delle fasi che sono:

- *fase catarrale*: dalla durata di 1-2 settimane. Si ha starnutazione, rinorrea, febbre, astenia, anoressia, malessere.
- *fase parossistica*: dalla durata di 2-4 settimane dove si hanno accessi parossistici di tosse, broncospasmo e difficoltà inspiratorie.
- *fase convalescente*: dalla durata di 3-4 settimane con diminuzione della sintomatologia. Sono possibili complicanze quale polmonite per sopraggiunta di altri microrganismi o encefalopatia da anossia.

Fattori di virulenza

Capsula → azione antifagocitaria

Grazie alle adesine proteiche (fimbrie) e all'emoagglutinina filamentosa, questi batteri aderiscono all'epitelio ciliato della trachea e bronchi. L'endotossina ha azione locale. Vengono rilasciate tossine:

- 4) *citotossina tracheale*: blocca i movimenti delle cellule ciliate (inibita la traduzione del DNA delle cellule ciliate)
- 5) *tossina dermonecrotica*: causa danno diretto all'epitelio respiratorio.
- 6) *tossina della pertosse*: causa una maggior sensibilità all'istamina quindi broncospasmo. Inoltre si ha un aumento delle IgE con conseguente edema che restringe il calibro del bronco. Con la pressione che si viene a determinare durante i colpi di tosse vi è il rischio della rottura di alcuni alveoli.

Diagnosi

La probabilità di successo di coltivare la bordetella pertussis si ha nella fase catarrale, mentre la sintomatologia caratteristica si manifesta nella fase parossistica. Inoltre un'altra difficoltà è la fragilità del batterio. Essendo anche una malattia lunga conviene anche una diagnosi indiretta cercando anticorpi per l'agglutinazione.

Terapia

Si somministrano Macrolidi quale Eritromicina, ma bisogna somministrarla prima della fase parossistica, e considerando l'assenza di sintomatologia caratteristica prima della fase parossistica, è difficile attuare una terapia nei tempi giusti. Il bambino può anche essere vaccinato con vaccino trivalente contro Anti difterite, tetano e pertosse.

## VIBRIONI

Bastoncini Gram-, incurvati lungo l'asse maggiore, mobili per la presenza di un unico flagello polare. Asporigeni. Non capsulati, anaerobi e aerobi facoltativi. Tollerano pH alcalino.

In base al loro assetto antigenico noi li possiamo classificare secondo l'*antigene somatico O*. Ce ne sono di 139 tipi. Solo O1 ed O139(Bengala) sono in grado di provocare malattia. Per poterli determinare si cerca la presenza di altri antigeni dove questi sono denominati mediante le lettere dell'alfabeto. Tutti i vibrioni possono essere suddivisi in O1, O139 e non cholerae.

### VIBRIO CHOLERAEE

Esiste una classificazione fatta sulla base di caratteristiche biologiche. Di O1 Ne esistono di 2 tipi, che sono:

- *Vibrio Colarae classico*: causa infezione grave di alta frequenza
- *Vibrio Colerae El Tor*: c'è un numero maggiore di portatori sani, è paucisintomatico, resiste di più al di fuori dell'organismo. → si sta diffondendo maggiormente del classico.

Entrambi questi vibrioni presentano una classificazione in tre sierotipi: Tipo Ogawa, Tipo Inaba, Tipo Hikojima.

Per secoli caratteristico del sub-continente indiano, dal 1817 si diffonde altrove. Oggi prevale in centro e sud-america.

**Patogenesi** Questo microrganismo penetra per via alimentare e aderisce saldamente ai villi intestinali e ne inverte le pompe. Produce la *tossina colerica (A-B<sub>5</sub>)*, nella quale abbiamo una porzione (B) che si lega ad un ganglioside degli enterociti, al cui interno penetra la porzione tossica (A). Questa si divide in 2 frammenti e quello *A1* agisce sulla componente regolatoria dell'adenilato ciclasi. Viene bloccata la G-proteina in stato attivo. L'eccessivo cAMP andrà ad agire sulle pompe Na e Cl, K e HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, iperattivandone l'azione invertita.

**Aspetti clinici** Il paziente presenta una diarrea non dolorosa, ad "acqua di riso", abbondante (10-12 l/die). Dunque avviene forte disidratazione. Questa determina un Hct altissimo e può causare lo shock ipovolemico. Inoltre si perdono elettroliti fra cui HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, con conseguente acidosi, e anche K<sup>+</sup> con complicanze nell'eccitabilità cardiaca.

### Diagnosi

La diagnosi clinica è abbastanza immediata. Comunque per l'identificazione si esaminano le feci, quindi c'è una fase di arricchimento (in terreno liquido povero a pH basico alto). Segue quindi semina in un terreno solido selettivo. Seguono prove biochimiche. Non si possono fare prove immunologiche indirette in quanto il S.I. non ha il tempo di montare la risposta immunitaria.

**Trattamento** in casi non gravi (nelle prime fasi) si può somministrare per os acqua arricchita con Glucosio (il carrier in simporto con il Na<sup>+</sup> non subisce danni

ad opera del vibrione) NaCl 3g, KCl 1,5g; NaHCO<sub>3</sub> 1,5g al giorno. In casi piú gravi bisogna procedere per via endovenosa.

## BRUCELLE

Coccobacilli (sono bastoncini, ma simili a cocchi), Gram<sup>-</sup>, immobili, asporigeni, spesso privi di capsula, aerobi, causano la brucellosi. Sono zoonosi che infettano l'uomo accidentalmente. Per l'uomo sono pericolose: *Brucella Melitensis* (ovini), *Brucella Abortus* (bovini); *Brucella Suis* (suini) e *Brucella Canis* (cani).

Esse a livello del LPS contengono due antigeni, l'antigene A e l'antigene M. Questi sono sempre presenti ma con rapporti diversi. Ad esempio nella *B.Melitensis* vi sar  piú antigene M.

### Patogenesi e patologia

Negli animali, che risultano ammalati (non sono portatori sani) si localizzano maggiormente negli annessi placentari (con conseguente aborto) e nella ghiandola mammaria (in questo caso la *B.* viene emessa con il latte). Quindi ci si pu  infettare per motivi professionali (lavoratori che hanno a che fare con gli animali) o il soggetto che mangia alimenti infetti (latticini non pastorizzati).

La *Brucella* passa attraverso le mucose, e dai linfatici locali si porta al sangue, dove da qui si porter  presso organi ricchi di cellule istocitarie (fegato, midollo, milza e linfonodi). Si moltiplicano intracellularmente, e morta la cellula si liberano nel sangue causando la febbre che presenta un andamento ondulante (sale nel pomeriggio e cade la notte, in cui abbiamo profusa sudorazione). Il paziente pu  anche non avere sintomi. Si hanno anche la formazione di granulami con lesioni necrotico-degenerative. Alla visita medica il paziente presenta epatosplenomegalia, linfadenopatia ed artriti.

### Diagnosi

Si possono eseguire nell'ordine (data la progressiva gravit  del prelievo del campione): emocultura (prelevare il sangue in momenti in cui c'  febbre piú alta), puntato midollare, biopsia epatica. La richiesta deve essere espressa data la crescita lenta.

**EMOCOLTURA:** si sono 2 provette una blu e una gialla. Quella blu contiene O<sub>2</sub>, quella gialla   senza O<sub>2</sub>. si fa il prelievo con 10 ml di sangue. Queste provette vengono analizzate da una macchina che misura nell'atmosfera la presenza di CO<sub>2</sub>. se c'  CO<sub>2</sub> significa che ci sono batteri. Inoltre sul fondo della provetta c'  una sostanza che viene colpita da un raggio che viene riflesso se c'  CO<sub>2</sub> legata. Questa   l'emocultura. Al microscopio   possibile vedere la replicazione intracellulare della brucella.

L'identificazione si fa mediante test biochimici e con prove immunologiche. Visto la complessit  meglio fare una diagnosi indiretta secondo la reazione di

agglutinazione di Wright. In questa prova bisogna tener conto di una possibile pro-zona di non agglutinazione per le alte concentrazioni di Ab, in quanto se ne possono sviluppare alcuni monovalenti (si legano con entrambi i domini variabili allo stessa cellula con l'Ag) che ricoprono interamente la brucella nascondendo così i siti di legame per gli anticorpi bivalenti. Così può accadere che nella/e prima/e provetta/e non si veda agglutinazione in quanto essendo alta la concentrazione le cellule vengono interamente ricoperti da anticorpi monovalenti. Raggiunta la diluizione alla quale si verifica agglutinazione si prosegue con le diluizioni fino a trovare la diluizione massima a cui essa è ancora presente.

## LISTERIA

La **Listeria Monocytogenes** è un bastoncino pleomorfo, Gram+. In coltura le colonie si dispongono a V. » aerobio/anaerobio facoltativo, mobile, asporigeno e capsulato.

Si trovano spesso negli animali anche domestici e da questi può passare sull'uomo. Ci si può infettare alimenti di origine animale o trattando materiali animali. Tuttavia l'infezione è possibile quasi esclusivamente in soggetti immunodepressi. Se essa avviene, causa meningite o meningo encefalite.

Se una donna ha infezione vaginale, al 50% si ha trasmissione materno-fetale, che può portare all'aborto o altrimenti nasce con *granulomatosi infantile* (sepsi granulomatosa generalizzata, che crea gravi danni a diversi organi). Il nascituro può anche nascere con la meningite purulenta.

### Diagnosi

L'esame colturale non è facile. Prima di seminare il batterio, questo va sospeso in brodo a 4-5 °C per 1-10gg, solo dopo si semina in Agar Sangue.

L'identificazione è facile e si esegue al microscopio e si nota che essi si muovono ruotando (a "capriole"). Se si seminano in un terreno con poco Agar, noi li seminiamo in maniera lineare ed essi crescono ad ombrello. Si possono fare anche prove biochimiche.

Si può anche eseguire la ricerca dell'Ab per agglutinazione.

## GARDNERELLA VAGINALIS

Bastoncini Gram+ , immobili e asporigeni.

Sono collegati ad una Vaginosi (= infezione vaginale comune, diversa dalla vaginite) che interessa maggiormente donne post-menopausa. Questo perché in età fertile gli ormoni aumentano la presenza di glicogeno, di cui si nutre *Lactobacillus Acidophilus* producendo Ac. Lattico che abbassa il pH e non

permette l'impianto di altri microrganismi.

Nelle vaginosi si hanno perdite grigiastre maleodoranti. Spesso insieme alla Gardnerella si trova un anaerobio chiamato *Mobiluncus*, quindi non si sa con esattezza chi dei due causa malattia.

Entrambi sono sensibili con metronidazolo.

Diagnosi

Innanzitutto si tiene conto della sintomatologia. Si può fare un esame colturale in Agar Sangue ma crescono piano e molto piccoli. Ha grande importanza l'esame del tampone vaginale al microscopio dove si notano le cellule vaginali ricoperte di Gardnerella.

## EMOFILI

Pleomorfi, Gram  $\bar{}$ , immobili e asporigeni, capsulati. Caratteristica è appunto il "tropismo" per il sangue, dal quale ricavano due fattori che non sono in grado di sintetizzare. Questi sono il *fattore X* (gruppi eme), e *fattore V* (NAD o NADP: nicotinammide-adenin-dinucleotide/...-fosfato)

Gli emofili sono divisi in più specie a seconda delle diverse necessità dei vari fattori e dell'attività emolitica. Le due specie principali sono: *Haemophilus Influenzae* (necessita sia di fattore X che di fattore V e non ha attività emolitica) ed *Haemophilus Ducreyi* (necessita solo di fattore V, ha attività emolitica).

### **HAEMOPHILUS INFLUENZAE**

Sulle base della capsula se ne identificano diversi tipi. Quello più importante è il tipo B. La capsula dà una potente capacità antifagocitaria. Causa meningite, specialmente nella prima infanzia (è la terza causa dopo lo pneumococco e la neisseria meningitidis) ma anche laringiti, particolarmente gravi in quanto spesso complicate da edema della glottide. Esiste un vaccino.

Diagnosi

Dal prelievo si esegue cultura in agar sangue selettivo. Quindi si semina in un terreno senza sangue, provvisto di 2 bande separate e perpendicolari, l'una ricca di fattore X, l'altra di fattore V. Se la zona di crescita del batterio è solo quella all'intersezione tra le 2, abbiamo ristretto il campo a sole due specie, che, riseminate in agar sangue, saranno identificabili: se è *H. Influenzae* non abbiamo emolisi, se invece questa si presenta, il batterio è *H. Haemoliticus*.

**Terapia** ampicillina

### **HEAMOPHILUS DUCEYI**

» l'agente etiologico dell'ulcera molle. Dopo contagio per via sessuale, in 2-5 gg compare una papula a livello genitale, che seguitamente si trasforma in

ulcera dai margini netti, dolorosa e a fondo molle (≠ sifilide: ulcera a fondo duro e non dolorosa)

**Diagnosi:** nell'ulcerazione abbiamo il batterio, isolabile in coltura

**Terapia:** sulfamidici

## CAMPYLOBACTER

Piccoli bastoncini curvi o elicoidali (ma non a spirale), Gram-, mobili, asporigeni, microaerofili (5% p<sub>O2</sub>) e non fermentanti.

Vi sono: *C. Jejuni* e *C. Coli* (causano enteriti) *C. Fetus*

C. JEJUNI e COLI

Colpiscono i volatili e i mammiferi e causano enteriti. L'infezione è per via alimentare. Molti sostengono produca una tossina *Cholera like* anche se ci sono alcuni dubbi in quanto vi è un'attività citolitica e non sregolatrice come il colera, si pensa dunque più a una tossina *Shiga like*. Provoca una dissenteria (sangue e pus nelle feci)

**Diagnosi** L'esame microscopico a fresco, difficile ma rapido. L'esame colturale utilizzando terreni particolari incubando a 41°C con 5% di CO<sub>2</sub>.

## HELICOBACTER PYLORI

Ha una morfologia spiraliforme, Gram-, mobile, asporigeno e microaerofilo (necessita di una concentrazione più bassa di O<sub>2</sub>). » causa di gastriti, in casi più gravi ulcere o in casi peggiori tumore dello stomaco.

**Patogenesi:** Esso si impianta nello stomaco e si nasconde nello strato di muco della mucosa gastrica e riesce a trovare numerose sostanze nutritive al di sotto della mucosa. Si protegge grazie all'enzima *ureasi* che rompendo l'urea (presente nello stomaco) forma ammoniaca che attorno al batterio tampona il pH acido. [(NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>C=O + H<sup>+</sup> -*ureasi* → HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> + 2(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>)]

Diagnosi

Metodi non invasivi:

- Ricerca Ab anti-helicobacter: scarsi risultati
- *urea breath test*: si esegue facendo bere al paziente urea radioattiva, quindi si misura con l'aria espirata la CO<sub>2</sub> radioattiva
- esame delle feci

metodi invasivi

Tutti questi metodi seguono alla gastroscopia (necessaria per diagnosi di gastrite), e sono:

*metodo istologico, metodo colturale, test rapido dell'ureasi* (misurazione del pH nei punti danneggiati della mucosa gastrica).

Per coltivare l'E.P. bisogna disgregare il tessuto, utilizzare terreni particolari (agar cioccolato) e in condizioni di microaerofilia. Dopo qualche giorno compaiono delle colonie. Seguono prove biochimiche.

**Terapia:** uso associato di Amoxicillina o Claritromicina o Ciprofloxacina, Metronidazolo, Omeprazolo

## YERSINIA

Esistono varie specie. Oggi sono considerati da alcuni come appartenenti agli enterobatteri. Sono tutte zoonosi che occasionalmente si trasmettono all'uomo.

### YERSINIA PESTIS

Piccolo cocco-bacillo, Gram-, immobile, asporigeno, capsulato, aerobio e anaerobio facoltativo, estremamente penetrante. In realtà la peste interessa maggiormente gli animali e solo raramente viene infettato l'uomo attraverso ectoparassiti di animali infetti. Se generalizza si può trasmettere da uomo a uomo. Due sono i tipi di: *peste Sylvatic* (vengono colpiti vari animali), *peste Urban* (colpisce il topo e viene trasportata dalla pulce)

#### Patogenesi

I batteri, superata la barriera cutanea (per inoculazione da ectoparassiti) o penetrati per via inalatoria, mediante i vasi linfatici si portano ai linfonodi. Se il linfonodo va in colliquazione si apre verso l'esterno e fistolizza (*peste bubbonica*).

Dopo di che la yersinia passa al sangue e da qui raggiunge vari organi quali fegato, milza, polmone e meningi. Raggiunto il polmone il batterio penetrato dalla cute può infettare per via aerea. Si hanno lesioni necrotico-emorragiche. I batteri inoculati sono privi di capsula, vengono uccisi dai neutrofili ma non dai monociti, al cui interno si moltiplicano e producono la *tossina murina* molto epatotossica ma soprattutto capillarotossica.

#### Diagnosi

- esame microscopico e vedere i cocco-bacilli,
- esame colturale in terreni contenenti emina, seguono test biochimici.

La **terapia** è la tetraciclina. Il batterio non è molto resistente ai farmaci.

### YERSINIA PSEUDOTUBERCULOSIS

Si contrae mediante contatto con animali infetti, ed ingestione di cibi contaminati. Causa adenite mesenterica o appendicite acuta. L'esame colturale non è molto efficiente, conviene la diagnosi indiretta mediante la ricerca di anticorpi.

***YERSINA ENTEROCOLITICA***

Si contrae mediante l'ingestione di cibi contaminati, causa adenite mesenterica ma solo nel bambino. Vi è anche appendicite acuta, enterite, dissenteria, diarrea (prevale in età inferiore ai 2 anni) e poliartrite (qualche settimana dopo). Si esegue esame colturale sulle feci.

## Accenni classificazione - Virus

(Famiglie –viridae, sottofamiglie –virinae, generi –virus.)

**Con pericapside** (herpes, pox, haepadna, toga, myxo, retro, rhabdo, corona)  
**o senza** (adeno, papo, parvo, pico, reo)

**In base al capsid:** **simmetria icosaedrica** (capsid ha forma geometrica) o  
**simmetria elicoidale** (proteine avvolgono semplicemente RNA)

**In base al genoma:** - **DNA:** -**monocatenario** (parvoviridae)

(deossiribovirus) -**bicatenario** (pox, herpes, adeno, papo, hepadna)

- **RNA:** -**monocatenario** (mixo, pico, retro, toga, rabdo)  
(ribovirus) -**bicatenario** (reo)

Il genoma a RNA pu' essere composto da una o da pi' molecole di RNA  
(genoma segmentato)

Inoltre i **ribovirus** possono essere a **polarità +** o **polarità -**

In base alla replicazione abbiamo alcuni ribovirus detti **retrovirus** perch' ad opera di una DNAPol RNAdip si retrotrascrivono a DNA per essere replicati assieme alla cellula.

Nelle pagine seguenti, le famiglie o superfamiglie sono indicate dai titoli a centro pagina, le sottofamiglie o le famiglie da titoli in maiuscolo e grassetto allineati a destra, mentre i singoli virus sono indicati da titoli in stampatello minuscolo grassetto sottolineato e corsivo. Tuttavia si rimanda alle tabelle e al libro per una pi' precisa classificazione.

### HIV (Human Immunodeficiency Virus)

» un ribovirus a polarità positiva, appartiene alla famiglia dei Retroviridae, e alla sottofamiglia dei lentivirinae. Il capsid ha simmetria icosaedrica con 72 proiezioni. » dotato di pericapsid, sulla cui membrana GP120 e GP41 sono le proteine che riconoscono i recettori bersaglio (principalmente il CD4 dei linfociti T<sub>H</sub>). Il genoma è dato da due copie di RNA monocatenario. L'HIV è trasmissibile per via sessuale o attraverso sangue infetto. Nei paesi poveri praticamente dimezza la prospettiva di vita. A livello pediatrico la situazione è migliorata in quanto recenti cure possono impedire la trasmissione materno-fetale.

#### Replicazione

A contatto con la cellula, GP120 e GP41 legano il recettore (CD4 principalmente), quindi il

pericapside si fonde con la cellula, avviene poi la perdita del capsido, al cui interno, oltre al RNA c'è la trascrittasi inversa (ma ci sono anche altri enzimi), che dunque sintetizza il genoma in forma di DNA. Questo si circularizza ed entra nel nucleo, dove si fonde a un cromosoma della cellula per opera di una endonucleasi. Il virus può così rimanere silente sotto forma di provirus. Se però si attiva, si trascrive a RNA (così si replica), si traduce in proteine capsidiche e pericapsidiche (queste ultime sono indirizzate alla membrana, in cui si inseriscono), l'RNA acquisisce il capsido che si indirizza ove sono presenti le proteine pericapsidiche, dunque per gemmazione il virus esce dalla cellula con capsido e pericapside.

## Genoma

3 sono i geni più importanti: GAG, ENV e POL. GAG e POL vengono letti e tradotti assieme, dando origine ad una poliproteina che è scissa in più proteine funzionali da una proteasi virale, che è l'obiettivo degli attuali farmaci anti-AIDS. A partire dal gene ENV viene tradotta una poliproteina, che glicosilata e poi scissa, dà origine a gp120 e gp41. Dagli altri geni originano proteine di regolazione, in particolare dal gene TAT origina una proteina fondamentale nella trascrizione del provirus, ed è per questo al centro di molte ricerche.

## Processo

L'AIDS è dato dal fatto che l'HIV causa la morte dei linfociti  $T_h$ , aumentando così il numero, il rischio e la gravità delle infezioni. La morte della cellula può avvenire per più ragioni:

- 7) La semplice replicazione del virus danneggia la cellula, sottraendo a questa molta membrana.
- 8) Nell'ultima fase, le proteine pericapsidiche gp120 e gp41 sono indirizzate alla membrana, dunque la cellula le espone. La cellula presenta così un Ag non-self, che ne causa l'uccisione da parte del S.Imm.
- 9) Durante la replicazione, sono rilasciate fuori dalla cellula anche forme solubili di gp120 e gp41, che, si legano ai CD40 della cellula stessa o di altre cellule, determinando il riconoscimento di queste ultime come non-self da parte del S.Imm., dunque la loro eliminazione.
- 10) I linfociti  $T_h$  infettati che espongono gp120, possono legare direttamente altri linfociti non infettati. In questo caso avviene la fusione delle 2 membrane (la membrana dell'intera cellula infettata si comporta come il pericapside virale). Si originano così cellule multinucleate (sincizi di linfociti T) destinate a morire.

Va precisato che il linfocita T non è il solo bersaglio, in particolare il virus può colpire le cellule della microglia.

## Patogenesi

*Infezione*: principalmente avviene per via sessuale, in generale per trasmissione di sangue o altri liquidi biologici (Nei tossico-dipendenti è in calo l'uso promiscuo di siringhe). L'infezione materno-fetale (possibile sia per via placentare, sia perinatale, sia nell'allattamento) è oggi affrontabile.

Inizialmente abbiamo un'infezione primaria, nella quale dopo un'incubazione di 3-6 settimane abbiamo un quadro febbrile acuto, con calo linfocitario e leucocitario e un'alta viremia (La diagnosi è però difficile data l'assenza di sintomi caratteristici). In seguito, sia per il "sequestro dei virus nei linfonodi, sia per la presenza di una risposta immune specifica, la viremia cala o addirittura scompare.

Inizia così un periodo finestra, che può durare diversi anni, durante il quale non abbiamo segni clinici, ma il virus continua a replicarsi nei linfociti, dei quali determina un progressivo e lento calo con le modalità prima descritte.

La sintomatologia riprende con una *linfadenopatia diffusa e persistente* cui fa seguito lo stadio ARC (AIDS related complex), in cui abbiamo febbre, diarrea, calo ponderale e astenia. In questo periodo la conta linfocitaria cala più velocemente.

Quando la conta linfocitaria (normalmente  $>500/\text{mm}^3$ ) scende sotto i  $3-400/\text{mm}^3$ , abbiamo la fase da AIDS conclamata, in cui ricompare un'intensa viremia e si moltiplicano le infezioni opportunistiche: frequenti sono la toxoplasmosi, la polmonite da *Pneumocystis Carinii*, le candidosi, la TBC, la meningite da *Criptococco neoformans*. In seguito, aumentano anche le probabilità di tumori opportunistici, sempre a causa del calo del S.Imm.

In alcuni pazienti si presentano anche lesioni degenerative del S.N.C., che portano alla ARD (AIDS-related dementia).

## Diagnosi

La sieropositività, cioè la presenza di Ab specifici per HIV nel siero dell'individuo, indica che l'infezione è in atto, anche se può essere clinicamente silente. Data la gravità della diagnosi, si procede con 2 test consecutivi: il primo deve essere ad alta sensibilità, cioè deve ammettere piuttosto falsi positivi che falsi negativi (si usa una reazione immuno-enzimatica), il secondo deve essere invece ad alta specificità (si usa il Western-blot).

Oltre a questi test, nel sieropositivo si utilizza la PCR, che permette di misurare la *carica virale*. Questo test, mediante amplificazione genica del DNA (linfocitario?), permette di avere una misurazione quantitativa della presenza di provirus HIV.

## MYXOVIRUS

Ribovirus (RNA) a polarità negativa, con capsida a simmetria elicoidale, forniti di pericapside. Divisi in due grosse famiglie:

- **ORTHOMYXOVIRIDAE:** virus dell'influenza, *influenza A, B e C*
- **PARAMYXOVIRIDAE:** diviso in due sottofamiglie:
  - o PARAMYXOVIRINAE: vi appartengono i *virus parainfluenzali 1, 2, 3, 4*, il *virus della parotite* e il *virus del morbillo*
  - o PNEUMOVIRINAE: *virus respiratorio sinciziale*

### ORTHOMYXOVIRUS

*Genoma:* RNA monocatenario a polarità -, segmentato in 7-8 pezzi (ciascuno dei quali è monogenico). *Capside:* simmetria elicoidale, ogni proteina avvolge il suo gene. *Matrice proteica:* tra capsida e pericapside, è data dalla proteina M. *Pericapside:* forma tondeggianti o filamentosa, presenta emoagglutinina e neurominidasi, che legano (e idrolizzano) l'acido sialico sulla cellula.

### Azione

Legatosi al recettore, il virus penetra nella cellula, quindi avviene la

scapsidizzazione. Essendo a polarità, il virus necessita di una RNAPol-RNAdip presente nel virione. Questa realizza le copie sense, che fungono al contempo da mRNA e da template per la replicazione. Le proteine capsidiche si addossano all'RNA antisense replicato, mentre la proteina M si addossa alla zona di membrana in cui sono state indirizzate le proteine pericapsidiche e funge da "collegamento" tra queste e il capsido. Segue gemmazione.

## Influenza

Come abbiamo detto ne esistono tre tipi, A, B, C, che infettano l'uomo, ma la A è in grado anche di infettare diverse specie animali. Spesso con il termine "influenza" sono spesso descritte molte infezioni virali, ma l'influenza vera e propria ha le seguenti caratteristiche cliniche: febbre, coinvolgimento delle prime vie respiratorie (raramente polmoni), cefalea, mialgia, dolori articolari, può esserci anche fotofobia.

L'infezione è per via aerea (per questo molto contagiosa), ed infetta le cellule delle vie aeree superiori (dopo 1-2 gg d'incubazione), quindi le uccide o per gemmazione o per effetto citocida del S.Imm. Il danno che provoca all'epitelio vibratile favorisce altre infezioni delle vie aeree, perché solitamente la guarigione è spontanea attraverso il S.I.

Il virus è pericoloso negli anziani, per la possibilità di complicanze, e solo in particolari condizioni può essere mortale (malnutrizione, grave depressione S.I., etc)

## Variabilità

I geni codificanti le proteine pericapsidiche (emoagglutinina e neuramminidasi) sono soggetti a frequenti mutazioni (soprattutto nell'influenza A), che ne rendono difficile il riconoscimento da parte del S.Imm. Le mutazioni, sommandosi danno origine ad una deriva genica o Antigenic drift.

Ma può anche verificarsi il fenomeno detto Antigenic shift: è più raro ed avviene solo per il virus A dell'influenza, in quanto è una ricombinazione data dalla contemporanea presenza nella cellula animale di un virus animale e del virus umano (influenza A). Essendo il genoma segmentato in più parti, queste possono scambiarsi. Si genera così un virus totalmente nuovo, che dà origine ad una pandemia. Generalmente queste variazioni originano con cadenza decennale nei paesi asiatici, dove uomini e animali vivono a stretto contatto. Per identificare le diverse variabili si usano le sigle HxNy (– dove x e y sono numeri – variante x di emoagglutinina, variante y di neuroamminidasi)

## Vaccino

La maggior parte delle influenze è data dall'influenza A, pertanto, la cui variabilità è difficile da seguire, per cui generalmente è difficile avere il vaccino specifico contro la variante dell'anno. Controindicazione per il vaccino è l'allergia alle uova, in quanto il virus del vaccino è coltivato in uovo embrionato.

## Diagnosi

Raramente il clinico chiede un esame per l'influenza al laboratorio, che effettua ricerche del virus solo a scopo epidemiologico e vaccinale (isolare la variante del periodo).

### **PARAMYXOVIRIDAE**

Simili per gli aspetti principali agli orthomyxovirus: genoma segmentato a RNA a polarità; capside a simmetria elicoidale, proteina M tra capside e pericapside. Sul pericapside è presente una proteina HN (emoagglutinina-neuroamminidasi) unita, mentre negli orthomyxovirus le due sono separate.

#### PARAMYXOVIRINAE

Paraingluenzali 1, 2, 3, 4

Questi virus non causano influenza, ma infezioni del tratto respiratorio. Negli adulti solitamente interessa solo il nasofaringe, nei bambini provoca invece laringotracheite, con comparsa di tosse "alta" (può interessare anche bronchi e bronchioli).

#### Virus della parotite

Dopo l'infezione, che avviene per via aerea, seguono 14-29 gg di incubazione, passati i quali compare la *sintomatologia*: febbre alta, tumefazione delle ghiandole salivari (in particolare la parotide). Nei 7-10 gg successivi si possono avere *complicanze*: specialmente nel maschio adulto si può avere orchite (molto dolorosa) che può portare a sterilità, più rara è la ooforite nella donna adulta; oltre a queste si possono avere meningiti (che per lo più si risolvono), e la più grave è la pancreatite, in quanto se le cellule delle ghiandole pancreatiche si lisano, si può avere l'autodigestione del pancreas.

#### Virus del morbillo

L'infezione avviene per via aerea, è contagioso e immuno-deprimente. Dopo 10-19 gg dall'infezione compaiono i primi sintomi: *febbre alta, tosse, secrezioni congiuntivali e segno di Koplick* (macchie bianche sulla mucosa delle guance). 1-2 gg in seguito a questi compare il caratteristico *esantema* di tipo maculo-papulare. In 3-5 giorni questo va in contro a desquamazione.

Sono possibili una serie di *complicanze* (molto gravi in un quadro di malnutrizione):

- 7) Coinvolgimento polmonare: le lesioni possono causare anche il sovrapporsi di altre infezioni
- 8) Porpora trombocitopenica: la trombocitopenia indotta dal virus causa soffiusioni cutanee emorragiche.
- 9) Panencefalite sclerosante subacuta: è una complicanza tardiva, abbastanza rara, che colpisce i bambini nell'infanzia avanzata e gli adolescenti, e riguarda l'encefalo in toto. Il tessuto nervoso è sostituito da tessuto fibroso.

### ***PNEUMOVIRINAE – virus respiratorio sinciziale***

Ha effetto citopatico sinciziale. L'infezione avviene per via aerea. Dopo 1-4 gg si sviluppa rinite, e 1-3 gg dopo abbiamo bronchiolite e polmonite. Colpisce per lo piú i bambini nella prima infanzia, nei quali il calibro giú piccolo dei bronchioli viene ulteriormente ristretto dalla forte componente edematosa dell'infezione. Si puó pertanto sviluppare insufficienza respiratoria, quindi cuore polmonare e insufficienza cardiaca. L'ipoventilazione favorisce inoltre infezioni batteriche occasionali.

#### Diagnosi

Sistema *Shell-Vials*: le cellule coltivate vengono inserite in un boccettino, quindi si inocula, si centrifuga a 3000 giri per favorire l'infezione. Quindi al virus viene lasciato il tempo di svilupparsi per 18-20 ore. In seguito con Ab marcati si vede se sono presenti proteine precoci di replicazione.

## **POXVIRIDAE**

Deossiribovirus (DNA) bicatenario, lineare, di grandi dimensioni, con pericapside e di forma ovale.

Fra i generi sono importanti gli ***orthopoxvirus***, che comprendono il *vaiolo umano*, quello vaccino (dal quale fu ricavato il primo vaccino) e quello della scimmia e il ***molluscipoxvirus*** (*virus del mollusco contagioso*)

### ***ORTHOPOXVIRUS: virus del vaiolo umano***

Oggi debellato grazie al vaccino su scala mondiale.

Dopo contagio per via aerea, il virus in 2 settimane si moltiplica nel polmone, quindi passa ai linfonodi e di qui al sangue, dando una *viremia primaria*. Catturato dagli organi del reticolo-endotelio, qui si moltiplica per dare origine a una *viremia secondaria*, che determina una diffusione total-body, in cui su cute e mucose si sviluppano in sincronia le lesioni: prima papule, poi vescicole, quindi pustole per poi divenire croste. » (era) mortale nel 50% dei casi.

**Diagnosi:** con i metodi classici, il virus è coltivabile nell'uovo embrionato, ove replicandosi provoca lesioni caratteristiche. » utilizzabile anche l'indagine sierologica, ma alla fase di crosta il virus è giú scomparso, ad essere letali sono i danni da esso provocati e la reazione del sistema immunitario.

### ***MOLLUSCIPOXVIRUS= virus del mollusco contagioso***

» un virus solo della specie umana e colpisce le cellule dell'epidermide. Non si conosce la via di contagio (forse il contatto con materiale contaminato o piccole lesioni dell'epidermide), ma è spesso ne sono sorgente le piscine. Causa la comparsa di noduli epidermici di colore perlaceo e ricchi di eosinofili, curabili solo con l'asportazione chirurgica.

## VIRUS DELL'EPATITE

Ve ne sono di diverse famiglie, hanno in comune l'epatotropismo (che tuttavia anche altri virus hanno). Distinguiamo i virus dell'**Epatite A, B, C, D** o **δ**, e solo in oriente sono presenti i virus dell'**epatite E** ed **F**.

### **VIRUS DELL'EPATITE A = HAV**

Appartiene alla famiglia dei **picornaviridae** (=piccoli virus a RNA), pertanto presenta un genoma a RNA plarit<sup>+</sup> monocatenario non segmentato, un capsido a simmetria icosaedrica ed è sprovvisto di pericapside.

Legatosi ad un recettore sugli epatociti viene fagocitato, perso il capsido traduce le proteine capsidiche ed una RNAPolRNAdip, grazie alla quale prima effettua una copia anti-sense che funge da template per la successiva replicazione. La cellula viene poi uccisa per lisi.

#### Patologia

Il virus si trasmette per via oro-fecale, dunque in scarse condizioni igienico sanitarie o per esempio attraverso alcuni cibi (come i molluschi crudi). Le epidemie possono verificarsi in collettività (scuole, caserme etc). Dopo incubazione di 20 gg circa compaiono i sintomi: caratteristico è l'*ittero* (colorazione gialla di cute e mucose), che si manifesta prima nella sclera oculare, poi sulla pelle. Ad esso si accompagnano urine scure (bilirubinuria) e feci chiare. Il quadro sintomatico è dovuto al fatto che il danno epatico determina il riversamento della bilirubina nel sangue anzichè nel calare digerente.

**Diagnosi** sempre indiretta, attraverso la ricerca di IgM anti-HAV

### **VIRUS DELL'EPATITE B = HBV**

L'unico di interesse clinico degli **hepadnaviridae**. » un virus a DNA circolare, parzialmente bicatenario in quanto la catena interna manca di un segmento. Il capsido è a simmetria icosaedrica, presenta un pericapside. All'interno è presente una matrice e una DNAPol virus-specifica.

Antigeni: *HBcAg, HBeAg, HbsAg* (il pi<sup>~</sup> esposto, in quanto di superficie)

Caratteristica della malattia, che ha una lunga incubazione è l'elevata viremia, nella quale perÚ la maggior parte dei pericapside virali si presenta vuoto di informazione genica. Si tratta di un sistema di resistenza virale: viene prodotta un'enorme quantit<sup>~</sup> di pericapside che si assembla senza il genoma, dando dei bersagli "finti" al S.Imm.

#### Replicazione

Una volta penetrato, il virus perde il capsido e il DNA liberato raggiunge il nucleo, dove ad opera della DNAPol virale completa il segmento mancante. Eseguita questa operazione avviene la trascrizione in mRNA, dal quale sono sintetizzate le proteine strutturali ed una trascrittasi inversa: infatti l'RNA funge anche da stampo per la replicazione del DNA (caratteristica degli Hepadna)

## Processo patologico

L'infezione avviene per via interumana attraverso sangue infetto o per via materno-fetale o perinatale. Nella prima fase abbiamo un picco di HbsAg (fa diagnosi) ed un contemporaneo picco, di entità minore di HbeAg. Questi calano poi per effetto delle risposte umorali e cellulo-mediata.

La risposta anticorpale segue per l'ordine seguente: prima compaiono HbcAb, poi gli HbeAb, ed infine gli HbsAb, che sono quelli decisivi, in quanto colpiscono l'Ag più esposto.

## Epatite B acuta

Come abbiamo detto l'infezione avviene da scambio di sangue. I sintomi sono generalmente inversamente proporzionali all'età. Così nel bambino l'epatite B è asintomatica in fase acuta, ma tende di più a cronicizzare. Nell'adulto la fase acuta diventa sintomatica nel 33-50% dei casi. I sintomi sono: *febbre, anoressia, nausea/vomito, leggero ittero, urine scure e feci chiare, dolore addominale, rash cutaneo (occasionale), artralgia.*

Il rischio maggiore, con una frequenza all'1-2% è l'*epatite fulminante*, letale nel 63-93% dei casi. Questa è curabile con il solo trapianto, tuttavia l'organo trapiantato viene infettato, ed è pertanto esposto ai medesimi rischi.

## Epatite B cronica

L'età è inversamente proporzionale alla percentuale di cronicizzazione (90% se l'infezione è materno-fetale o peri-natale, 25-50% se tra 1 e 5 anni, 10% dopo). In questo caso HBsAg non scompare mai dal siero. Si verifica quando HBsAg continua a essere presente nel sangue in assenza di HBsAb (la risposta anticorpale non è efficace o è lenta).

Nel 25% delle infezioni in età pediatrica, in assenza di cronicizzazione si può sviluppare una cirrosi epatica, che spesso esita nell'epatocarcinoma (non è il virus ad essere oncogenico, ma l'aumentata velocità di replicazione in seguito al danno tissutale del fegato).

## Diagnosi

Su richiesta del clinico si effettua la ricerca dei marcatori dell'epatite B, che sono in primo luogo HBsAg e HbeAg (diagnosi diretta), ma si ricercano anche gli Anticorpi HBcAb (i primi a comparire ma non risolutivi) e HBsAb. Per gli anticorpi si effettua anche la ricerca differenziale tra IgM ed IgG, utili ad indicare lo stato di guarigione o di cronicizzazione della malattia (un guarito e IgG anti-HBc e IgG anti-HBs positivo, mentre un vaccinato è positivo solo per quest'ultimo)

**Vaccino** Si usa l'HBsAg.

## ***VIRUS $\delta$ o DELL'EPATITE D***

» un virus ad RNA di tipo **difettivo**, in quanto può infettare e replicarsi solo se è compresente HBV, il suo pericapside è infatti lo stesso dell'HBV, ed è pertanto

caratterizzato dal HBsAg. » differenziato da questo per l'Ag proteico  $\delta$  del capsid. Questo virus determina manifestazioni piú severe di HBV. Per la diagnosi si aggiunge la ricerca del  $\delta$ Ag

### **VIRUS DELL'EPATITE C = HCV**

Ribovirus monocatenario a polarit  + di una sola molecola, appartenente (come genere a parte) alle **flaviviridae**. Dotato di capsid a simmetria icosaedrica. Possiede pericapsid.

Ha un'elevatissima tendenza alla cronicit , data la grande variabilit  di alcune proteine pericapsidiche (E1 ed E2). L'infezione avviene per scambio di sangue. La malattia ha un lento sviluppo, con un incubazione di 2-5 settimane ed   sintomatica nella fase acuta solo nel 5-10% dei casi, con astenia, nausea e raramente ittero. Si cronicizza spesso, e nel 20% dei pazienti cronici, anche a notevole distanza dall'infezione (20 anni) evolve in cirrosi epatica e carcinoma epatico.

### **ADENOVIRUS**

Sono virus a DNA bicatenario lineare, sprovvisti di pericapsid e con capsid a simmetria icosaedrica, i cui capsomeri ai vertici sono pentoni e presentano delle proiezioni (fibre) che fungono la molecole di attacco, mentre sulle facce dell'icosaedro ci sono esoni. Contiene una DNAPol virale. Sulla base dei vari Ag si classificano numerosi tipi di adenovirus, di cui solo alcuni sono connessi a patologie. I vari tipi hanno diversi bersagli, a seconda dei quali varia la patologia

- *Intestino*: enteriti di causa sconosciuta, caratterizzate da diarrea
- *Tratto respiratorio*: pu  causare faringiti, infezioni delle vie respiratorie alte, ma anche malattia respiratoria acuta e polmonite atipica primaria, con tosse secca e febbre bassa.
- *Occhio*: pu  causare congiuntiviti, ma nei casi pi  gravi anche tracoma.

Recentemente si   dimostrato un suo ruolo oncogenico.

**Diagnosi** nella maggior parte dei casi l'infezione si risolve senza problemi, dunque   rara la richiesta. Tuttavia   possibile isolare e coltivare il virus in colture cellulari umane (HeLa), cos  come la ricerca degli Ag virali nei materiali patologici e la ricerca di Ab nel siero.

### **PICORNAVIRIDAE**

Ribovirus monocatenari di una sola molecola, a polarit  +. Capsid a simmetria icosaedrica; senza pericapsid. Comprendono pi  generi:

8. **ENTEROVIRUS**: comprendono i *Poliovirus* (1,2,3), i *Coxsackievirus A* (1-22), i

*Coxsackievirus B (1-6), gli Echovirus e gli Enterovirus umani (68-71)*

9. **RHINOVIRUS**: causa principale (seguiti dai Coronavirus) del raffreddore comune.

10. **VIRUS DELL'EPATITE A**: precedentemente affrontato

## ENTEROVIRUS

### Echovirus

Sono responsabili, faringiti, meningiti asettiche e forme febbrili che possono essere con esantemi.

### Enterovirus umani

Causano affezioni delle vie respiratorie, congiuntiviti (anche emorragiche), esantemi vescicolosi, meningiti asettiche ed encefaliti

### Coxsackievirus gruppo A

Faringite vescicolare (febbrile, vescicole grigie che diventano ulcere dolorose), meningite asettica, manifestazioni esantematiche.

### Coxsackievirus gruppo B

Hanno tropismo per i tessuti muscolari (striati), determinano il morbo di Bornholm (cefalea, febbre e forte mialgia), ma anche miocarditi (che possono condurre a miocardiopatia dilatativa, correggibili solo con trapianto) e pericarditi.

### Poliovirus – poliomielite

Oggi vicini all'essere debellata grazie al vaccino di Sabin. Pi diffuso dove le condizioni igienico sanitarie sono scarse. L'infezione avviene per via alimentare, inizialmente il virus si localizza nell'intestino, provocando nausea, vomito, diarrea, poi si diffonde per via ematica, ed ha uno spiccato neurotropismo. Interessa soprattutto le corna anteriori del midollo spinale, e i suoi danni possono determinare paralisi flaccida (irrecuperabile dunque causa di invalidit permanente), ma pu anche portarsi al SNC.

### Vaccinazione

Esistono 2 tipi di vaccinazione: una è quella di Salk, effettuata con il virus ucciso, che pertanto deve essere data per via sottocutanea, ed è un po' meno immunogenico; la seconda è quella di Sabin, che si effettua con una forma mutata di poliovirus che ha perso il suo neurotropismo. Questo pu essere somministrato per via orale, causa diarrea, attraverso la quale si pu diffondere nell'ambiente soppiantando progressivamente il poliovirus neurotrofo. Il metodo di Sabin ha permesso quasi di debellare il virus, ma in s porta il rischio di retromutazioni.

### Diagnosi

Il virus è coltivabile in colture cellulari ed ha effetto citopatico visibile. Segue

reazione di neutralizzazione.

## ARBOVIRUS

(Arthropod Born Virus)

Non si tratta di una famiglia vera e propria, ma di un insieme di virus appartenenti a diverse famiglie, che hanno in comune la trasmissione attraverso un vettore artropode, all'interno del quale si moltiplicano senza causare la malattia. Vi appartiene la **TBE** (thick born encephalitis), il virus dell'encefalite da morso di zecca. Le famiglie all'interno delle quali abbiamo arbovirus:

- **Togaviridae**: RNA polarità +, con pericapside. La rosolia appartiene a questa famiglia MA NON è un arbovirus.
- **Bunyaviridae**: RNA, polarità - o ambisenso; con pericapside.
- **Reoviridae**: RNA bicatenario; senza pericapside.
- **Rhabdoviridae**: RNA polarità -; senza pericapside. Alla famiglia appartiene il virus della rabbia, MA NON è un arbovirus.
- **Flavoviridae**: RNA polarità +; con pericapside.

Questi virus causano: malattie febbrili, febbri emorragiche ed encefaliti. Sono in aumento in correlazione con i cambiamenti climatici.

### TOGAVIRUS

Virus a RNA monocatenario a polarità +, con capside a simmetria icosaedrica e pericapside.

Si dividono in **Alphavirus**, che appartengono agli Arbovirus, e **Rubivirus**, cui appartiene la Rosolia

RUBIVIRUS: virus della Rosolia

Caratteristica di questo virus (usata nelle indagini) è l'attività emoagglutinante sui GR di piccione.

Malattia

L'infezione avviene per via aerea. Vi sono 15-20gg d'incubazione, durante i quali si ha un'iniziale moltiplicazione del virus nelle vie aeree, quindi dai polmoni questo passa al sangue, determinando una viremia primaria, poi è catturato dal reticolo endotelio, ed in seguito abbiamo una viremia secondaria. Da quest'ultima si origina la fase prodromica, con febbre, malessere, rinorrea e linfadenopatia retro-auricolare e sub-occipitale. In seguito compare il rush cutaneo, di tipo maculo-papulare, che interessa prima il volto, poi il tronco (le macule non confluiscono; sono più chiare di quelle del morbillo). La malattia si risolve sempre positivamente (rare complicanze negli adulti). Gravi complicanze sono possibili se la malattia è contratta in gravidanza, in quanto

l'infezione materno-fetale puÓ determinare:

- *Cecità*: sia per retinite, sia per glaucoma;
- *Sordità*: sia neurologica che coclearie;
- Deficit neurologici;
- Epatosplenomegalia;
- Polmonite interstiziale;
- Malformazioni cardiache.

Il numero e la gravità delle complicanze è tanto piú grave quanto piú precoce è la contrazione del virus nella gravidanza.

Diagnosi

Da indagini sembra che il 15% delle donne raggiunga l'età fertile non protetta dal virus. L'esame è indiretto, ed è utile anche per sapere (qualora il paziente non se ne ricordi) l'eventuale copertura vaccinale o dall'aver contratto in passato il virus. A quest'ultimo scopo alle donne in gravidanza si esegue la TORCH (Toxoplasmosi, Rosolia, Citomegalovirus, Herpes), un esame sulla ricerca di Ab.

**Vaccino** Si esegue con il virus vivo attenuato, l'immunizzazione dura 15 anni. Secondo alcuni non è consigliabile eseguirlo in gravidanza. La vaccinazione (in caso di assenza IgG specifiche all'esame sierologico) è consigliata per le donne in età fertile.

**Contagiosità** Nei 7 gg precedenti e nei 7 successivi la comparsa dell'esantema.

## RHABDOVIRIDAE

### VIRUS DELLA RABBIA

A forma di proiettile, è un ribovirus monocatenario lineare a polarità -. Porta con sé una RNAPol RNAdip, ed ha una capsida a simmetria elicoidale. » dotato di pericapside. » un virus capace di infettare quasi tutti i vertebrati e si trasmette attraverso il morso di un animale infettato, che elimina il virus con la saliva già da 8 gg prima di una manifestazione evidente. Tuttavia anche l'animale vettore sviluppa i sintomi della rabbia. Dopo l'inoculazione, il virus percorre i nervi e il midollo, raggiungendo l'encefalo, dal quale poi si diffonde all'occhio e alle ghiandole salivari.

Patologia

Dopo l'infezione, inizialmente abbiamo una fase prodromica, con febbre, mialgia, cefalea, nausea e vomito, cui segue (il periodo d'incubazione dopo il morso è abbastanza lungo) la fase encefalitica: agitazione, allucinazioni, aggressività, iperestesia sensoriale, intolleranza a suoni e luci. A questa fa seguito la rabbia (propriamente detta), con ipersalivazione, idrofobia, spasmi dolorosi di diaframma, laringe e faringe. La guarigione è un evento eccezionale.

## Diagnosi su sospetto di rabbia

Innanzitutto si effettua la pulizia della ferita, quindi per decidere se proseguire con l'immunizzazione, si esegue uno screening "anamnestico": per prima cosa si vede se è possibile che l'animale che ha morso abbia la rabbia (no = nessuna terapia), se ci  è possibile, ci si informa se nella zona sia nota la presenza della rabbia (no = nessuna terapia). In caso entrambe queste cose abbiano riscontro affermativo, si vede se l'animale è stato catturato: in caso negativo si procede con l'immunizzazione attiva e passiva, in caso positivo prima di farlo si esamina l'animale.

**Immunizzazione Passiva:** vengono fornite Ig specifiche, nel sottocutaneo, particolarmente intorno alla ferita. **Attiva:** è il vaccino (human diploid cell vaccine), comporta 7 dosi ed un'immunizzazione piuttosto lunga (tuttavia effettuarlo dopo il morso permette una buona protezione).

## CORONAVIRIDAE

Virus ad RNA monocatenario non segmentato, di polarità +, con capsidi a simmetria elicoidale e pericapside. Due tipi sono patogeni per la specie umana: **HCV-229E** e **HCV-OC43**. Questi causano raffreddore, come i Rhinovirus (appartenenti ai Picornavirus).

All'interno di questa famiglia nel 2002-2003, è comparsa la **SARS**, che ha rappresentato una pandemia, anche se di n ridotto (8500 contagi e 900 morti). Essa è partita dalla provincia rurale cinese, dalla compresenza in un animale del virus con un virus ad alta ricombinazione genica. Quindi il contagiato, recatosi in un hotel di Hong-Kong ha "dato" il via alla diffusione su scala mondiale. Questo virus provoca sindrome respiratoria acuta, e varia da individua ad individuo la sua capacità di ritrasmissione.

## HERPESVIRIDAE

Deossiribovirus bicatenario, con capsidi a simmetria icosaedrica, dotato di pericapside. La maggior parte ha effetto litico, tutti sono capaci di latenza. Sono diviso in tre grosse sottofamiglie:

- **$\alpha$ -Herpesvirus:** hanno in comune la latenza nei gangli sensitivi, sono *HSV-1* (herpes simplex virus tipo 1), che colpisce prevalentemente la mucosa labiale e buccale, *HSV-2*, che colpisce i genitali, e *VZV* (varicella zoster virus), responsabile di varicella e zoster.
- **$\beta$ -Herpesvirus:** vi appartiene *CMV* (citomegalovirus). Caratteristica è la replicazione lenta e la citomegalia. Il luogo di latenza sono le ghiandole secretorie e i tubuli renali.
- **$\gamma$ -Herpesvirus:** vi appartiene *EBV* (Epstein-Barr virus). Si moltiplicano solo nei linfoblasti e sono capaci di latenza nei B-linfociti.

### **$\alpha$ -HERPESVIRUS**

HSV-1

» il responsabile dell'erpete labiale. La prima infezione si ha spesso in età infantile, per contagio interumano tramite saliva o oggetti contaminati, e si ha se c'è un contemporaneo calo delle difese immunitarie, anche breve e piccolo. Nella prima infezione si ha gengivo-stomatite, di tipo sistemico. Avviene la guarigione, ma non è completa, in quanto il virus si situa in forma latente nel ganglio trigeminale (se è stato colpito il volto). In caso di calo, anche lieve e breve del S.I., può tornare a proliferare determinando lesioni vescicolose riunite a grappolo. Solo il primo contagio può essere pericoloso in gravidanza.

### HSV-2

Molto simile al precedente, ma infetta principalmente la zona genitale, di conseguenza anche il contagio è più tipico dell'età adulta. L'infezione perinatale può causare gravi infezioni erpetiche generalizzate, infezioni oculari e può causare meningiti ed encefaliti.

### VZV

In prima infezione dà la varicella, le riattivazioni possono dare herpes zoster.

### Varicella

L'infezione avviene per via inalatoria, dopo 15-20 giorni di incubazione (fase in cui si è contagiosi) appare l'*esantema*: inizia dal capo (in particolare zona retro auricolare), per poi diffondersi a tronco e arti; è dato da papule, che evolvono in vescicole e poi in croste pruriginose (se si approfondano, possono residuare piccole cicatrici); ha un aspetto definito "a cielo stellato".

Rare sono le complicanze: polmonite e meningoencefalite, ma si risolvono.

Con la risposta immunitaria il virus si "rifugia" in stato di latenza nei gangli sensitivi delle radici dorsali (più raramente, ma non è escluso nel trigemino)

### Zoster

In caso di calo del S.I. il virus può riattivarsi, nel qual caso il virus inizialmente causa forte algia nel dermatomero del ganglio interessato, seguita (48-72h) dalla comparsa sulla cute dello stesso dermatomero, di poche papule vescicolose localizzate sempre nel dermatomero in questione. In 10-15 gg si ha guarigione. Le complicanze si possono avere solo in soggetti immunodepressi.

### ***β-HERPESVIRUS: CMV(citomegalovirus)***

Caratteristica del CMV è l'effetto di *citomegalia*, ovvero l'ingrossare le cellule infettate, per importanti inclusioni inteanucleari ed intracitoplasmatiche (date da ammassi di virus neoformati).

Colpisce gran parte della popolazione (20%), ma è quasi sempre asintomatico. Può dare danni in due casi:

- *soggetti immunodepressi* (più se da farmacia): causa epatiti, dermatiti ed espone al rigetto i trapiantati (riduce l'immunodepressione farmacologica).
- *Infezione primaria (non riattivazione) in gravidanza*: determina nel nascituro problemi cerebrali e malattia citomegalica generalizzata, che porta a microencefalia, parotidi gonfie e malformazioni.

### ***γ-HERPESVIRUS: EBV = Epstein-Barr virus***

» l'agente etiologico della **Mononucleosi infettiva**, malattia estremamente polimorfa che si trasmette attraverso la saliva. Quasi sempre manifesta faringo-tonsillite con comparsa di placche (simile angina streptococcica). » a-/paucisintomatico in età infantile, si presenta lievemente più grave in età giovanile ed adulta. Il virus è linfoproliferativo, quindi nel trapiantato, che è farmacologicamente immuno-depresso, può causare linfoma. Ha un discreto potere oncogeno: nei paesi africani a volte porta al **linfoma di Burkitt**, nei paesi asiatici al **carcinoma naso-faringeo**

#### REOVIRIDAE

Virus a RNA a doppia elica segmentato, provvisto di 2 capsidi, l'uno interno all'altro, ma sprovvisto di pericapside. Porta con se una RNAPol specifica.

A questa famiglia appartengono diversi generi:

- **Orbivirus** e **Cultivirus**: appartengono agli arbovirus
- **Reovirus**: è presente in materiale patologico intestinale, ma non ha correlazioni con patologie certe.
- **Rotavirus**: sono la causa principale della *diarrea infantile*, spesso con vomito e febbre, che può richiedere trattamento ospedaliero per evitare la disidratazione.

**Diagnosi** sierologica, sia diretta che indiretta.

#### PAPOVIRIDAE

Deossiribovirus con genoma bicatenario circolare, con capside a simmetria icosaedrica e senza pericapside. Il nome stesso deriva dai due generi:

**Papillomavirus** e **Poliomavirus** (meno importante in quanto dà infezioni asintomatiche o con sintomi di scarso rilievo)

#### PAPILLOMAVIRUS

Ha particolare tropismo per la cute e le mucose (in particolare dei genitali). » implicato nel carcinoma della cervice. A seconda dei diversi tipi varia la sede e la potenzialità oncogenica.

- *Da lesioni cutanee*: il virus causa le verruche volgari (papule bianco-grigiastre o brune, piatte o rilevate), oppure altri tipi causano epidermodisplasia verruciforme (diffusione delle lesioni a gran parte della superficie corporea, raramente può anche essere uno sviluppo da verruche volgari), che a volte può esitare in carcinoma cutaneo
- *Da lesioni mucose*: causa condilomi piani e/o acuminati (masse verrucose di consistenza molle) soprattutto a livello dell'apparato genitale. Può anche determinare il carcinoma cervicale (non tutti i papillomi sono oncogeni, lo sono in particolare i sierotipi 16 e 18 → su un condiloma è possibile valutare il rischio di neoplasia).

## VIRUS EBOLA

La famiglia è quella delle **filoviridae**, della quale fa parte assieme al **virus Marbug**, che perÚ è considerabile come una variante del virus ebola. » un virus a RNA con polarità -, monocatenario e lineare, non segmentato. » avvolto da un capsid e ha un pericapsid. Caratteristica è la sua forma ripiegata a "6" o a "U" oppure ad "O". Causa la *Febbre emorragica*.

### Patologia

L'infezione avviene per via parenterale, dopo 5-7 gg si hanno cefalea e malessere, cui fa seguito eruzione maculo papulare. Successivamente compare ematemesi (sangue nel vomito) e melena (sangue digerito nelle feci), dovute al fatto che il virus causa emorragia nella parte superiore del tratto gastroenterico. Queste emorragie conducono allo shock ipovolemico e dunque a morte.

### Diagnosi

Sierologica, sia con ricerca Ag virali, sia con ricerca Ab. Esistono soggetti asintomatici che presentano Ab anti-ebola.

## PARVOVIRIDAE

Deossiribovirus di piccole dimensioni, caratterizzati da un genoma a DNA a single strand lineare, hanno un capsid a simmetria icosaedrica e non hanno pericapsid. Una volta penetrati nella cellula il DNA, raggiunto il nucleo prima di tutto diventa double strand ad opera della DNAPol cellulare, quindi segue il processo di replicazione degli altri virus a DNA. Vi sono 2 sottofamiglie: i **Densovirinae** e i **Parvovirinae**. A quest'ultima appartengono il genere *Dependovirus* (infettanti solo in compresenza con adenovirus) e il genere *Erythrovirus*, cui appartiene il **PARVIRUS B19**

***PARVOVIRUS B19* (genere *Erythrovirus*, sottofam. *Parvovirinae*, fam. *Parvoviridae*)**

L'infezione si trasmette per via aerea e puÚ dare:

- **Quinta malattia esantematica dell'infanzia** (caratterizzato da macchie sulla faccia)
- Lievi infezioni del tratto respiratorio
- Artralgia
- **In soggetti con anemia emolitica dà crisi apalastica**: caduta critica del tasso di Hb, dovuta al fatto che il virus, replicandosi nel midollo osseo, determina la morte dei precursori eritroidi, bloccando l'eritropoiesi
- Interruzione di gravidanza

## I PRIONI

Sono agenti patogeni di natura esclusivamente proteica, provvisti di proprietà infettanti (via sangue e via alimentare). Si tratta di proteine aberranti in grado di indurre aberrazioni in altre proteine. Sono la causa delle encefalopatie spongiformi non di origine genetica. La prima patologia notata e identificata come avente tale origine era il **Kuru**, che colpiva gli antropofagi. Oggi è nota la **Creutzfeldt-Jacob**, che ha colpito bovini e ovini nutriti con mangimi di derivazione animale.

## APPENDICE

Famiglia	DNA/ RNA	polarità	mono- bi- catenario	circolare / lineare	1 sl molec/ segmentato	simmetria capside	pericapside	sottofamiglie e generi
1 retroviridae	RNA	+	mono	lineare	2 copie	icosaedrica	si	lentivirinae: <b>HIV-1; HIV-2</b>
2 MYXOVIRIDAE	RNA	+	mono	lineare	segmentato	elicoidale	si	<b>orthomyxoviridae</b> : virus dell'influenza A,B;C; <b>paramyxoviridae</b> : <b>paramyxovirinae</b> : parainfluenzali 1,2,3,4; virus della parotite; virus del morbillo; <b>pneumovirinae</b> : virus respiratorio sinciziale
3 POXVIRIDAE	DNA		bi	lineare	non segm	ovoidale/ parallelepipedica	si (ovale)	<b>orthopoxvirus</b> : virus del vaiolo umano; <b>molluscipoxvirus</b> : virus del mollusco contagioso
4 virus dell'epatite (più famiglie)	RNA	+	mono		non segm	icosaedrica	no	<b>HAV</b> (appartiene <i>Picomaviridae</i> )
5	DNA		bi [segm]	circolare interno	.non segm incompleto]	icosaedrica	si	<b>HBV</b> (unico di <i>Hepadnaviridae</i> di interesse clinico)
6	RNA		-	-	-	-	si (HBV)	virus di epatite D (infetta solo insieme ad HBV; difettivo)
7	RNA	+	mono	lineare	non segm	icosaedrica	si	<b>HCV</b> (genere a parte di <i>flaviviridae</i> )
8 ADENOVIRIDAE	DNA		bi	lineare	non segm	icosaedrica	no	adenovirus (diverse affezioni se interessa intestino, tr. Resp., occhio)
9 PICORNAVIRIDAE	RNA	+	mono	lineare	non segm	icosaedrica	no	<b>ENTEROVIRUS</b> : echovirus, enterovirus umani, coxsackievirus A, coxsackievirus B, poliovirus. <b>RHINOVIRUS</b> (raffreddore). <b>Virus dell'epatite A</b> (vedi sopra)
arbovirus	(categoria di più famiglie)							<b>TBE</b> (thick born encephalitis)
10 TOGAVIRIDAE	RNA	+	mono	lineare	non segm	icosaedrica	si	virus della rosolia NON è un arbovirus; lo sono la sottofam Alphavirus
11 BUNYAVIRIDAE	RNA	-	mono	circolare	segm	elicoid (>1)	si	
12 REOVIRIDAE	RNA		bi	lineare	segm 10-12	icosaedrica	no	
13 RHABDOVIRUS	RNA	-	mono	lineare	non segm	elicoidale	si	virus della rabbia appartiene alla famiglia ma NON è un arbovirus
14 FLAVIVIRIDAE	RNA	+	mono	lineare	non segm	incerta	si	
15 TOGAVIRIDAE	RNA	+	mono	lineare	non segm	icosaedrica	si	<b>Rubivirus</b> : virus della rosolia; gli <b>Alphavirus</b> sono arbovirus
16 RHABDOVIRUS	RNA	-	mono	lineare	non segm	elicoidale	si	virus della rabbia
17 CORONAVIRIDAE	RNA	+	mono	lineare	non segm	elicoidale	si	HCV-229E e HCV-OC43 causano raffreddore. Alla famiglia appartiene la SARS (causa sindrome respiratoria acuta).
Famiglia	DNA/ RNA	polarità	mono- bi- catenario	circolare / lineare	1 sl molec/ segmentato	simmetria capside	pericapside	sottofamiglie e generi
18 HERPESVIRUS	DNA		bi	lineare	non segm	icosaedrica	si	<b>α-herpesvirus</b> : HSV-1 (herpes labiale), HSV-2 (herpes genitale); VZV (varicella-zoster); <b>β-herpesvirus</b> : CMV (citomegalovirus); <b>γ-herpesvirus</b> : EBV (Epstein Barr virus: mononucleosi infettiva)
19 REOVIRIDAE	RNA		bi	lineare	non segm	2 icosaedrici uno dentro altro	no	<b>Orbivirus e cultivirus</b> : sono arbovirus; <b>Reovirus</b> (correlazioni non certe con patologie intestinali); <b>Rotavirus</b> (diarrea infantile anche grave)

	Batteri	forma	col./parete	aerobi/anaerobi	capsula	mobilità	sporigeni/aspor.	altro	specie
1	Streptococchi	cocchi	Gram+	aerobi/anaerobi	spesso capsula	immobili	asporigeni	catalasi -	pyogenes, pneumoniae, mutans, agalactiae enterococchi
2	Micobatteri	bastoncini	acido alcol resistenti	aerobi obbligati	"capsulati"	immobili	asporigeni	crescita lenta	tuberculosis, leprae
3	Enterobatteri	bastoncini	gram -	aerobi/anaerobi	spesso capsulati	mobili	asporigeni	ossidasi -	salmonelle, shigelle, e.coli, klebsielle, enterobacter, serrata
4	Gram - non fermentanti	bastoncini	gram -	aerobi		spesso mobili	asporigeni		pseudomonas, burkholderia
5	Bacilli sporigeni aerobi	bastoncini	Gram +	aerobi (spora in anaerobiosi)			sporigeni		anthracis, cereus
6	Neisserie	cocchi	gram -	aerobi/anaerobi	generalmente capsulati	immobili	asporigeni	ossidasi +	gonorrhoeae, meningitidis
7	Spirochete	spiraliformi	colorazione difficile ma Gram -	aerobi/anaerobi		mobili (filamento actina)	asporigeni		treponemi (pallidum), borrelie (recurrentis e bulldoferi), leptospire
8	Clostridi	bastoncini	Gram +	anaerobi			sporigeni (drum stick)		tetani, botulinum, perfringens, difficile
9	Stafilococchi	cocchi	gram +	aerobi/anaerobi	non organizzata (glicocalice)	immobili	asporigeni	catalasi +	aureus, epidermidis
10	Micoplasmi	molto piccoli	senza parete	aerobi/anaerobi	sprovvisi		asporigeni	membrana con steroli	pneumoniae
11	Clamidie	~cocchi	colorazione difficile consid. Gram -	parassiti endocellulari obbligati	-	-	asporigeni	incapace sintesi ATP	tracomatis, psittacei
12	Rickettsie	coccobacilli	colorazione difficile consid. Gram -	parassiti endocellulari obbligati	-	-	asporigeni	-	di tifo petecchiae e murino e di febbri esantematiche (bottonosa) [coxiella burnetii una volta]
13	Legionelle	bastoncini	gram -	aerobi/anaerobi		non sempre	asporigeni		
14	Corinebatteri	forma clavata	gram +	aerobi/anaerobi	sprovvisi	immobili	asporigeni		difteriae
15	Bordetelle	coccobacilli	gram -	aerobi/anaerobi	capsula	immobili	asporigeni		pertussis
16	Vibrioni	bastoncini incurvati	gram -	aerobi/anaerobi	sprovvisi	mobili monotrichi	asporigeni		O139(Bengala); O1: Classico, El Tor. [sierotipi O1: Hokawa, Inaba, Hikojima]
17	Brucele	coccobacilli	gram -	Aerobi	raramente capsulati	immobili	asporigeni		Melitensis, Abortus, Suis, Canis
18	Listeria	bastoncini	gram +	aerobi/anaerobi	capsula	mobile	asporigeni		monocytogenes
19	Gardnerella Vaginalis	bastoncini	gram +	aerobi/anaerobi		immobili	asporigeni		
20	Emofili	pleomorfi	gram -	aerobi/anaerobi	capsula	immobili	asporigeni	"tropismo" sangue	influenzae, (hemolyticus), ducreyi
21	Campylobacter	bastoncini curvi o elicoidali	gram -	microaerofili (5% O2)		mobili	asporigeni	tossina cholera o shiga-like	Jejuni, Coli, (fetus)
22	Helicobacter Pylori	spiraliformi	gram -	microaerofili		mobili	asporigeni	ureasi +	
23	Yersinia (pestis)	coccobacilli	gram -	aerobi/anaerobi	capsula	immobili	asporigeni		(sylvatic, urban)