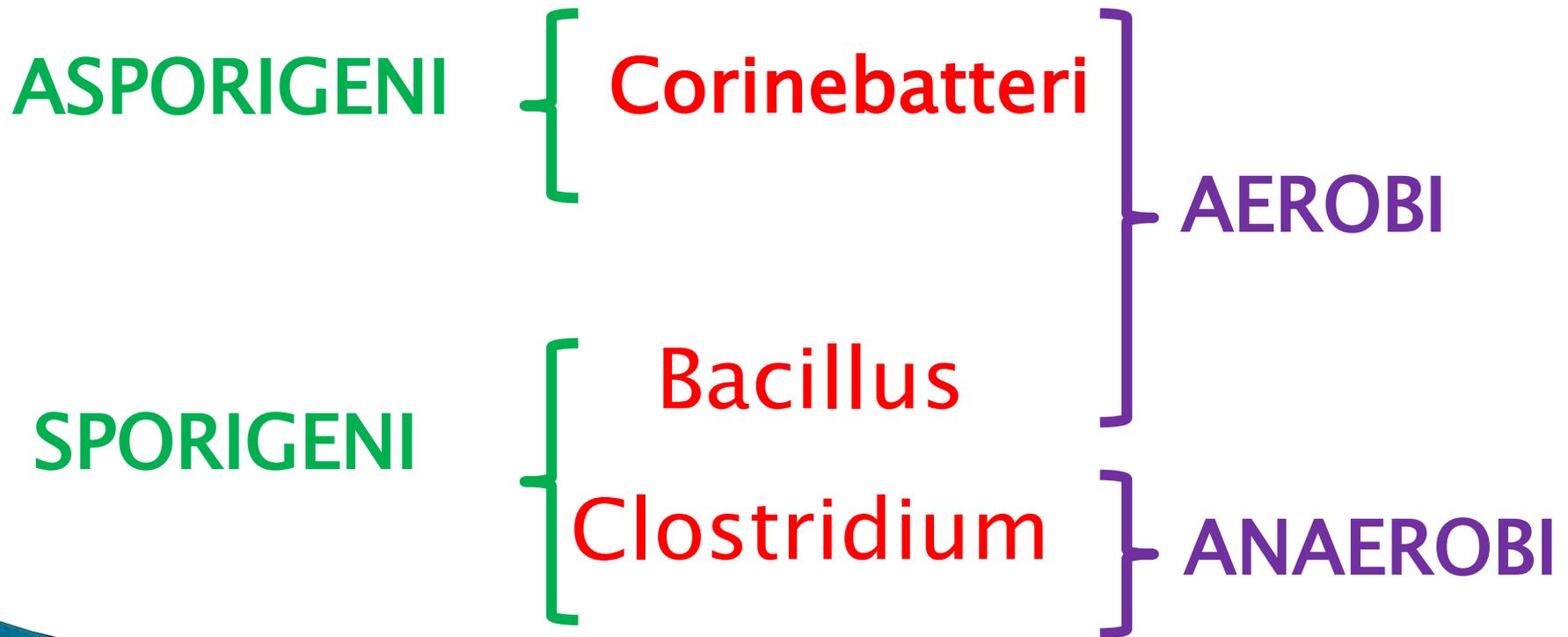


Bacilli Gram+

Corinebatteri, Bacilli, Clostridi

Bacilli gram+



CORINEBATTERI

- Gram+ (ma tendono a colorarsi in modo **irregolare**)
- Bastoncelli sottili e **pleomorfi**
- Immobili
- Non capsulati
- ASPORIGENI
- Aerobi/anaerobi facoltativi

- Crescono in agar-sangue.



Il patogeno più importante è *C. diphtheriae*

Corynebacterium diphtheriae

Causa la **DIFTERITE**, malattia acuta **respiratoria** o **cutanea**, che può essere letale.

Lo sviluppo del **VACCINO** (obbligatorio, prima infanzia) ha reso la malattia praticamente assente nei paesi occidentali. Al contrario, è ancora grave soprattutto in paesi poveri e con scarsa copertura vaccinale.

Il batterio si trova in **faringe**, **laringe** e mucosa **nasale** sia in malati che in portatori sani.

Trasmissione prevalentemente per via **RESPIRATORIA** tramite goccioline di saliva contaminate.

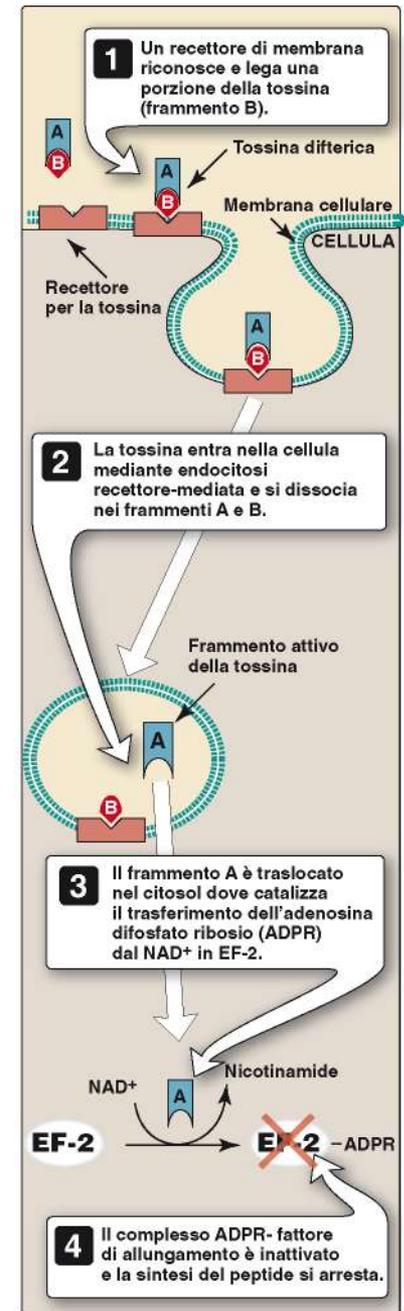
PATOGENESI. La malattia è completamente dovuta agli effetti locali e sistemici della **ESOTOSSINA DIFTERICA** che inibisce la sintesi delle proteine eucariotiche: codificata da un fago lisogeno.

Proteina termolabile composta da **2 frammenti**:

A (tossico, blocca sintesi proteica)

B (atossico, necessario per legame al recettore di membrana)

*Il frammento A catalizza una reazione fra **NAD** e **EF-2** (fattore eucariotico di allungamento della catena polipeptidica). L'inattivazione di EF-2 impedisce lo scorrimento della catena peptidica nascente a livello ribosomiale. Il turnover di EF-2 è molto lento, per cui una sola molecola di esotossina può bloccare tutta la sintesi proteica di una cellula.*



IMPORTANZA CLINICA

La malattia clinicamente può essere asintomatica (**portatore asintomatico**), oppure si può presentare in 2 forme:

- **RESPIRATORIA**
- **CUTANEA**



Difterite respiratoria. Infezione rigorosamente **LOCALIZZATA** nella sede iniziale di impianto (gola). I batteri si moltiplicano, e la **TOSSINA** PROVOCA UN DANNO LOCALIZZATO: si forma uno **spesso essudato grigio**, aderente (**pseudomembrana**) formato da epitelio necrotico inglobato in fibrina e materiale infiammatorio, che può ostruire completamente le vie aeree, fino a causare la morte del paziente per soffocamento. Con il progredire della malattia compaiono i **SINTOMI GENERALIZZATI** dovuti alla produzione e diffusione della tossina per via ematica: anche se tutte le cellule sono suscettibili alla tossina, gli effetti principali sono su **nervi periferici** e **cuore**.

Difterite cutanea. Il batterio può colonizzare anche la pelle. Attraverso lesioni (ferite, tagli) può penetrare nel sottocutaneo, sviluppando **ulcere** croniche che non guariscono, caratterizzate dalla presenza di una **membrana grigia**. Raramente si possono avere segni sistemici.

DIAGNOSI DI LABORATORIO

La diagnosi e il trattamento sono basati sulla **osservazione clinica**. La difterite va sospettata in caso di faringite con febbre, adenopatia satellite cervicale (rigonfiamento del collo con caratteristico aspetto “taurino”), presenza di **pseudomembrane grigie** aderenti.

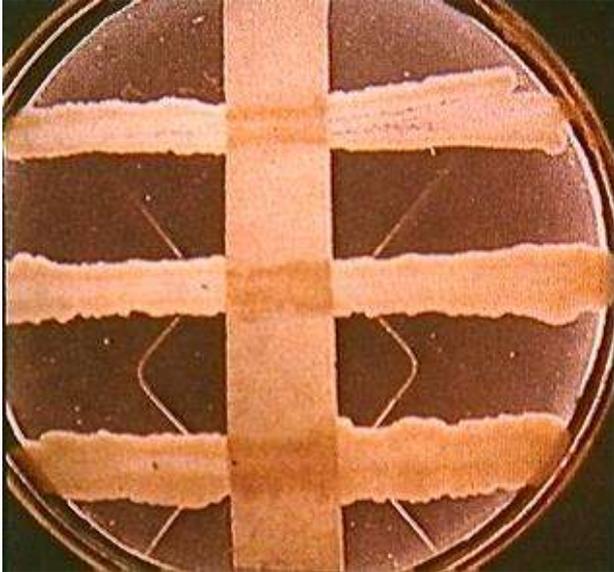


FIGURA 20-4

Piastra di diffusione in agar per la dimostrazione della tossigenicità di ceppi di *C. diphtheriae* (metodo di Elek). Una striscia di carta da filtro imbevuta di antitossina difterica è posta al centro ed appena sotto la superficie dell'agar. La piastra è inoculata da entrambi i lati della striscia ed incubata per 24-48 ore. Nella figura si osservano tre ceppi in esame. Una reazione positiva (ceppo tossigeno) è evidenziata dalla formazione di una o più linee bianche di precipitato tossina-antitossina. Le due colture in esame nella parte in basso sono positive. (Da R. J. Olds, *Color Atlas of Microbiology*. London, Wolfe, 1975.)

La diagnosi va poi confermata mediante **ESAME COLTURALE**. Per l'isolamento si utilizzano terreni selettivi (con **tellurito di potassio**, che inibisce gli altri batteri) o il terreno di **Loeffler** (con siero di vitello) in cui il *C.* cresce molto più rapidamente (4-8 ore) degli altri batteri.

Bisogna verificare la **produzione di TOSSINA** (per differenziarlo da molti *C.* commensali normali).

TRATTAMENTO E PREVENZIONE

Il trattamento della difterite richiede una rapida **NEUTRALIZZAZIONE della TOSSINA** (con immunizzazione passiva: siero di cavallo contenente anticorpi **ANTITOSSINA**), seguita dalla **ERADICAZIONE del BATTERIO**, mediante **ANTIBIOTICI** (è sensibile a molti antibiotici, come eritromicina o penicillina).

Pietra miliare per la prevenzione è la **VACCINAZIONE** con il **TOSSOIDE difterico**, somministrato di solito nel triplice vaccino DPT (con tossoide tetanico e antigeni pertosse). Le vaccinazioni iniziano nella prima infanzia e vengono poi effettuati richiami a distanza di 10 anni.

ALTRI CORINEBATTERI

Si conoscono numerose altre specie di corinebatteri, detti **DIFTEROIDI**.

Sono **commensali** comuni di naso, gola, rinofaringe, cute, tratto urinario e congiuntiva.

Di norma **NON** producono esotossina

Infezioni solitamente **endogene** (malattie in immunodepressi): setticemia, endocardite, infezioni da corpo estraneo, vie urinarie, respiratorie.

Bacilli gram+ sporigeni

AEROBI



Genere Bacillus



- Bastoncini **Gram+**
- **Capsulati**
- **Immobili**
- **SPORIGENI** (endospore, diametro uguale alla cellula batterica)
- **Aerobi** stretti o facoltativi

Presenti ubiquitariamente nell'ambiente, e trovati anche nell'intestino umano.

Solo alcuni di interesse medico:

B. anthracis causa l'antrace.

B. cereus importante in infezioni ospedaliere.

TABELLA 25-1. Specie di *Bacillus* e malattie ad esse associate

| MICROORGANISMO | MALATTIA |
|---------------------------------|--|
| <i>B. anthracis</i> * | Carbonchio (cutaneo, da inalazione, gastrointestinale) |
| <i>B. cereus</i> * | Gastroenterite (emetica, diarroica), infezioni oculari, sepsi legata a catetere, infezioni opportunistiche |
| <i>B. mycooides</i> * | Gastroenterite, infezioni opportunistiche |
| <i>B. thuringiensis</i> * | Gastroenterite, infezioni opportunistiche |
| Altre specie di <i>Bacillus</i> | Infezioni opportunistiche |

* Membri del gruppo di *B. cereus*

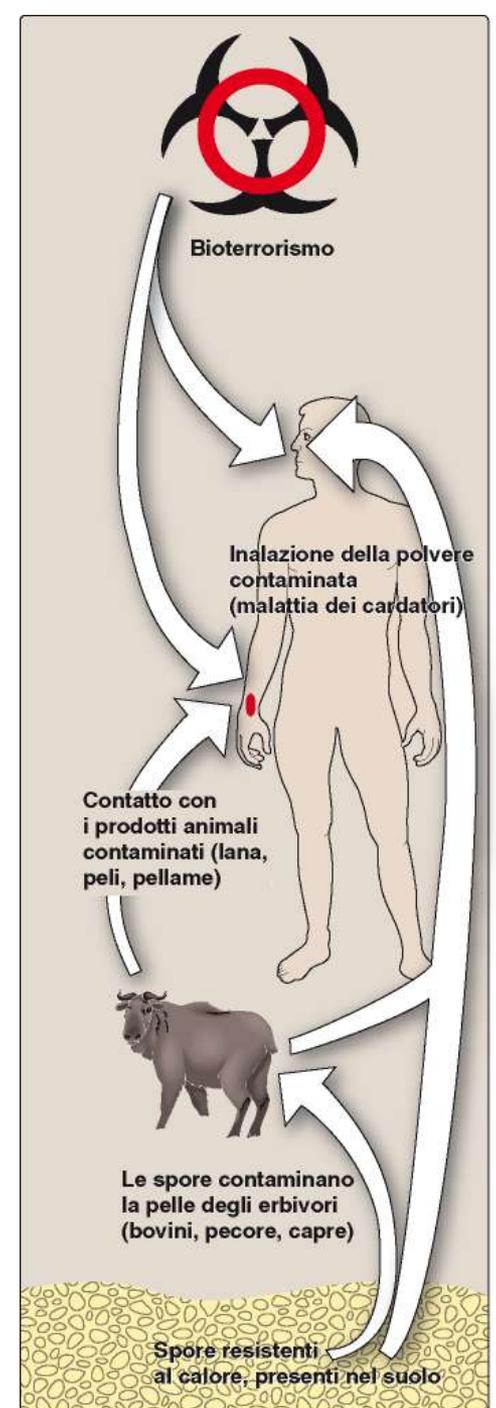
Bacillus anthracis

Causa la malattia detta **Antrace** o **Carbonchio**, abbastanza rara. Ha acquistato nuova importanza a causa del **BIOTERRORISMO** (segnalati 22 casi dal 2001 a oggi, mentre solo 3 casi dal '84 al '97).

Malattia **enzootica** presente in tutto il mondo. Interessa prevalentemente **erbivori** domestici, la cui pelle si contamina alimentandosi nei pascoli inquinati dalle **spore**. Le spore sono resistenti a agenti fisici e chimici, e possono rimanere vitali per molti anni.

Può essere trasmessa all'uomo per **contatto accidentale** con gli animali infetti o con i loro prodotti. L'infezione inizia con l'inoculazione sottocutanea delle spore attraverso lesioni (antrace **cutaneo**) o, meno frequentemente, con l'inalazione di polvere ricca di spore (antrace **polmonare**, "malattia dei cardatori").

B. Anthracis è **sensibile a molti antibiotici**, ma la penicillina non è raccomandata a causa della presenza di **β -lattamasi inducibili**. L'antrace cutaneo risponde bene a **doxiciclina, eritromicina e ciprofloxacina**. Nel caso di antrace polmonare è raccomandata una terapia aggressiva polivalente (anche perché spesso la malattia non viene diagnosticata fino ad una fase avanzata).

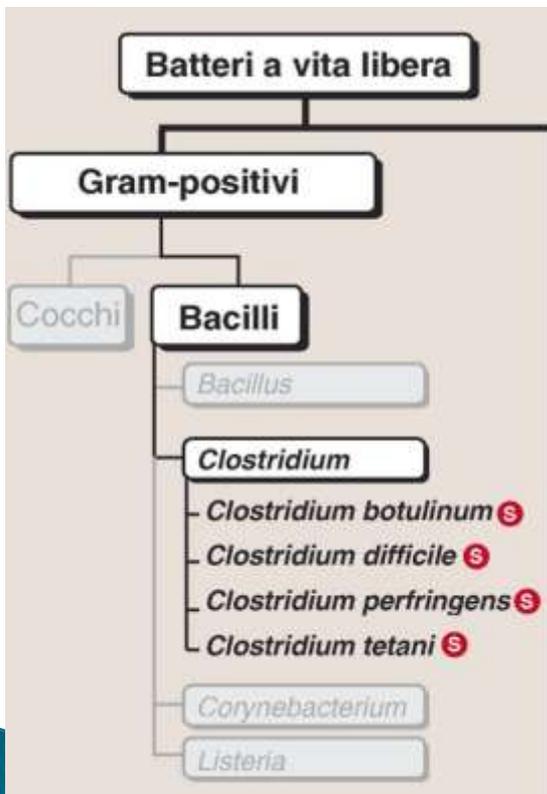


Bacilli gram+ sporigeni

ANAEROBI



Genere CLOSTRIDIUM



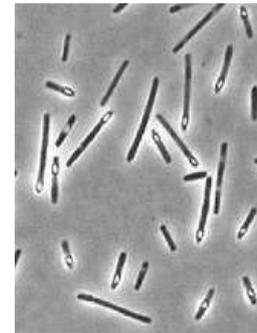
- Bastoncelli Gram+ di grandi dimensioni
- **MOBILI** (flagelli peritrichi)
- **Anaerobi obbligati**
- **SPORIGENI**: endospore con diametro > cellula (\neq *Bacillus*)
- Producono **esotossine** potentissime.
- Forma e localizzazione spore utili per identificazione.



C. botulinum



C. difficile



C. perfringens

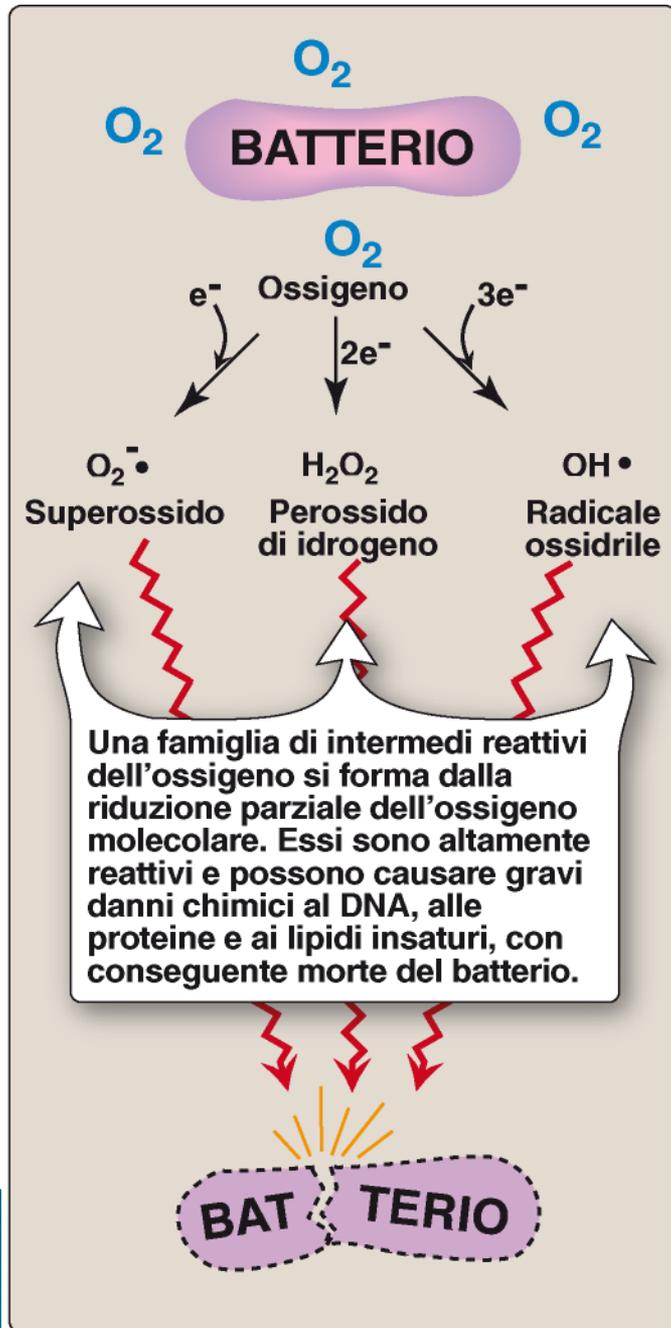


C. tetani

Metabolismo anaerobio: solo FERMENTAZIONE

I clostridi sono **incapaci di usare l'O₂** come accettore terminale di elettroni per la produzione di energia: non hanno citocromi, producono ATP **fermentando** zuccheri o aminoacidi, usando come accettore finale piccole molecole organiche, come il piruvato.

Allo stato vegetativo sono **inibiti o danneggiati** dalla presenza di O₂ : **assenza degli enzimi** (superossido-dismutasi, catalasi, perossidasi) che rimuovono i composti tossici (perossidi e radicali).



EPIDEMIOLOGIA

Ubiquitari nell'ambiente, si trovano anche nella **flora** intestinale.

Alcuni sono patogeni. Infezioni **OPPORTUNISTICHE** e spesso **ENDOGENE**: introduzione accidentale nei tessuti profondi di **batteri o spore** (attraverso lesioni, traumi, chirurgia) o assunzione cibi contaminati dalle **tossine**.

TABELLA 37-1. Principali clostridi patogeni e malattie umane ad essi associate*

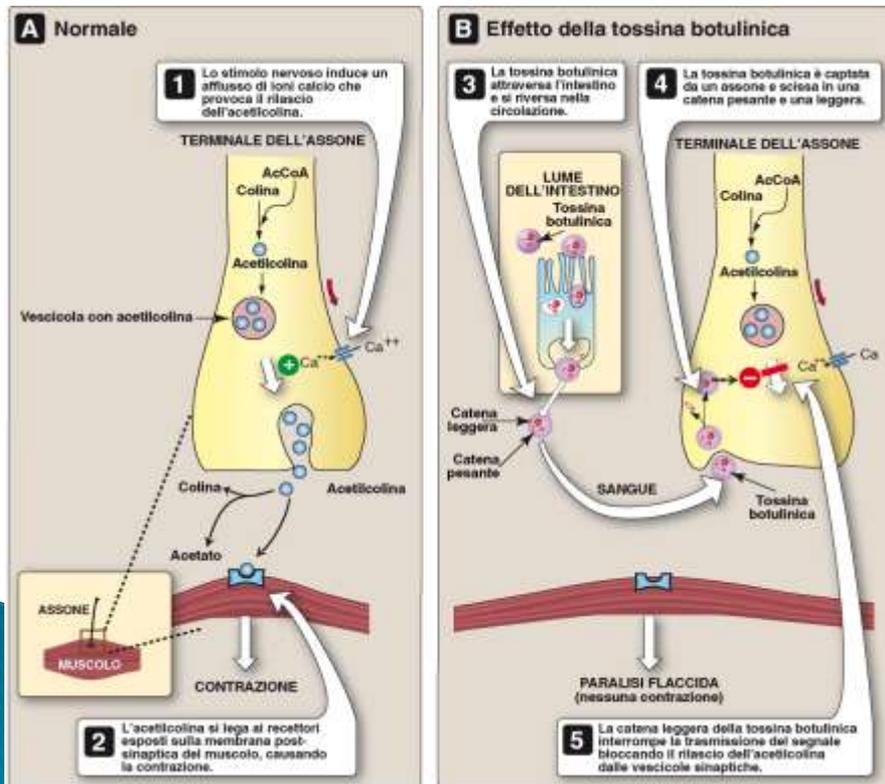
| SPECIE | MALATTIA ASSOCIATA | FREQUENZA |
|------------------------|--|------------|
| <i>C. difficile</i> | Diarrea da trattamento antibiotico, colite pseudomembranosa | Comune |
| <i>C. perfringens</i> | Infezioni dei tessuti molli (cellulite, miosite suppurativa, mionecrosi o gangrena gassosa), intossicazioni alimentari, enterite necrotizzante, setticemia | Comune |
| <i>C. septicum</i> | Gangrena gassosa, setticemia | Non comune |
| <i>C. tertium</i> | Infezioni opportunistiche | Non comune |
| <i>C. botulinum</i> | Botulismo | Non comune |
| <i>C. tetani</i> | Tetano | Non comune |
| <i>C. barati</i> | Botulismo | Raro |
| <i>C. butyricum</i> | Botulismo | Raro |
| <i>C. histolyticum</i> | Gangrena gassosa | Raro |
| <i>C. novyi</i> | Gangrena gassosa | Raro |
| <i>C. sordelli</i> | Gangrena gassosa | Raro |

* Altre specie di clostridi sono state associate a malattia nell'uomo ma principalmente come patogeni opportunisti. Inoltre, alcune specie (quali *C. clostridioforme*, *C. innocuum*, *C. ramosum*) sono comunemente isolate ma sono raramente associate a malattia.

Clostridium botulinum

Agente eziologico del **BOTULISMO**, malattia che si presenta in varie forme cliniche, causato dall'azione di una **NEUROTOSSINA** che è uno dei veleni più potenti conosciuti.

Il contatto con il batterio non è indispensabile, per cui può essere considerata come una vera e propria **INTOSSICAZIONE**. In presenza di condizioni favorevoli (anaerobiosi, pH neutro o alcalino) la spora germina e il batterio produce la **tossina**. Se prodotta negli **alimenti**, si verifica l'intossicazione.



Malattia interamente dovuta alla **tossina botulinica**, che arriva alle sinapsi colinergiche attraverso il sangue e **BLOCCA LA GIUNZIONE NEUROMUSCOLARE** (inibisce il rilascio dell'acetilcolina) → no contrazione muscolare → **PARALISI FLACCIDA**.

IMPORTANZA CLINICA

Botulismo classico. *Intossicazione alimentare* con gravi disturbi neurologici: inizialmente difficoltà a focalizzare le immagini per paralisi dell'accomodazione, difficoltà nella deglutizione, fino a dispnea da insufficienza respiratoria dopo **12-36** ore dall'ingestione dell'alimento contaminato da tossina. Non sono presenti febbre o segni di sepsi. **Paralisi** progressiva dei muscoli, e morte nel 15% dei casi per paralisi respiratoria.

Botulismo infantile. A differenza del botulismo classico, questo è causato da *tossina prodotta dal batterio che colonizza l'intestino* crasso dei neonati di 3-24 settimane di età (negli adulti non può crescere per la competizione con la flora residente). Trasmissione con miele contaminato da spore. Sintomi iniziali: costipazione, problemi di alimentazione, letargia, fino a paralisi flaccida con **morte improvvisa neonatale**.

Botulismo da ferita. Forma rara di botulismo che si verifica quando una **ferita viene contaminata dal batterio** e la *tossina* è assorbita in quel sito. Mortalità rara.

DIAGNOSI DI LABORATORIO.

Identificazione **TOSSINA** in siero, feci, alimenti. Il batterio deve essere coltivato in **ANAEROBIOSI**.

TRATTAMENTO E PREVENZIONE.

Somministrazione immediata di **ANTITOSSINA** (antisiero trivalente A-B-E di cavallo).

Nel botulismo da ferita l'infezione può essere trattata con penicillina o altri **ANTIBIOTICI**.

NB - La tossina è inattivata dall'ebollizione, mentre per le spore è necessaria l'autoclave.

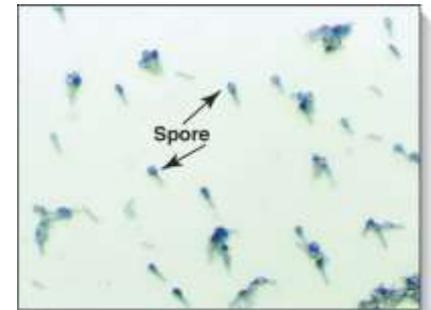
Clostridium tetani

Agente eziologico del **TETANO**, dovuto all'introduzione di **SPORE** nelle ferite, anche molto piccole.

La combinazione tra vaccinazione diffusa e estrema sensibilità all'O₂, ha reso il **TETANO** una malattia assai rara nei paesi occidentali, dove è osservata più frequentemente negli anziani che non hanno effettuato i richiami del vaccino.

Nei Paesi più poveri oltre 1.000.000 casi con mortalità superiore al 20%.

EPIDEMIOLOGIA. Le **spore** sono ubiquitarie, penetrano attraverso **lesioni** di cute o mucose (puntura da scheggia, gravi ustioni, interventi chirurgici, morsi di animali, iniezione di droghe contaminate da spore).

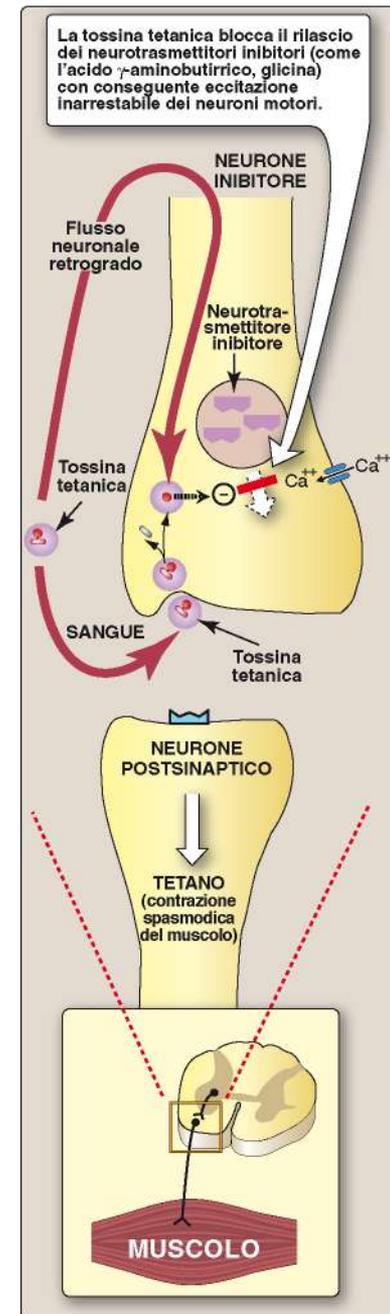


PATOGENESI. Le spore germinano localmente (assenza di O₂) e producono la **TOSSINA TETANICA**: dal sito di infezione diffonde mediante il sangue o per via intraneuronale retrograda, fino al tronco cerebrale e al midollo spinale dove svolge la sua azione patogena. Proteina termolabile codificata da plasmidi, formata da **2 subunità**: subunità **B** (pesante, media il legame al recettore sui neuroni), e subunità leggera **A** (penetra nelle cellule e svolge azione tossica).

MECCANISMO DI AZIONE

La tossina tetanica *blocca il rilascio del neurotrasmettitore nelle sinapsi inibitorie*, causando conseguentemente gravi spasmi muscolari prolungati = **PARALISI SPASTICA**.

Il **frammento A** della tossina tetanica è una proteasi, che scinde una piccola proteina della vescicola sinaptica (sinaptobrevina) così da abolire il flusso dei neurotrasmettitori inibitori.



IMPORTANZA CLINICA

Incubazione da qualche giorno ad alcune settimane → **paralisi spastica**, in cui gli spasmi coinvolgono prima il sito di infezione primaria: interessati i muscoli della mascella, impedendo l'apertura della bocca ("mandibola serrata"); la contrazione dei muscoli facciali provoca il cosiddetto "riso sardonico".

Vi è poi coinvolgimento di altri muscoli e del sistema nervoso autonomo.

La **morte** (15-60%) sopravviene di solito per paralisi dei muscoli respiratori.

DIAGNOSI DI LABORATORIO. Dato che il trattamento deve essere iniziato immediatamente, la diagnosi è posta clinicamente. Su **agar-sangue** cresce in **anaerobiosi**, sciama per la mobilità.

TRATTAMENTO E PREVENZIONE. Rapida somministrazione dell'**antitossina** (immunizzazione passiva con Ig umane o di cavallo). Gli **antibiotici** sono usati per eradicare il batterio (sensibile alla penicillina), insieme a sbrigliamento chirurgico. **VACCINO** con **tossoidi** tetanico (tossina inattivata con formalina). Somministrato nell'infanzia nel DPT. Richiami ogni 10 anni.

Clostridium difficile

EPIDEMIOLOGIA. **Ubiquitario** (suolo e acqua). Isolato dal 3% di adulti sani, e fino al 20% in pazienti ospedalizzati, senza sintomatologia. Ci si infetta con le **spore**: l'ambiente ospedaliero può essere persistentemente contaminato da spore.

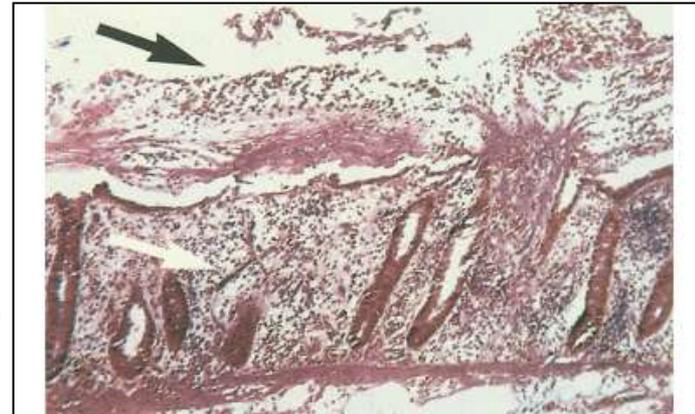
PATOGENESI. Componente secondario della flora intestinale: quando la terapia antimicrobica sopprime le specie predominanti, *C. difficile* inizia a proliferare. I ceppi patogeni producono **2 tossine**:

Tossina A: **enterotossina** che induce infiammazione, ipersecrezione di fluidi, e necrosi.

Tossina B: è una **citotossina**, che interrompe la sintesi proteica.

IMPORTANZA CLINICA. Tutti i farmaci antimicrobici possono predisporre a diarrea (**AAD**) o colite pseudo membranosa (**PMC**), anche letale. Più spesso coinvolti clindamicina, ampicillina e cefalosporine.

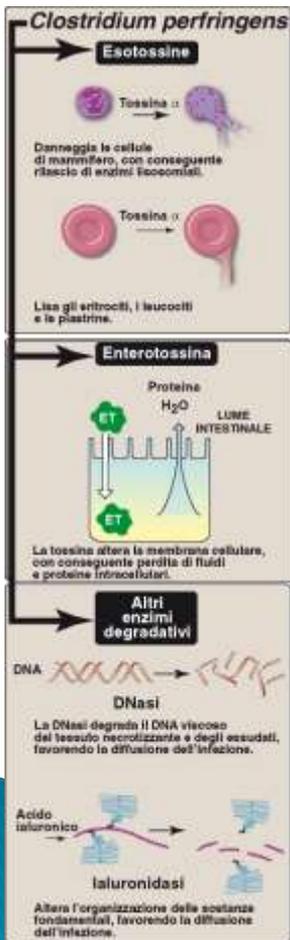
In endoscopia si osserva **essudato pseudomembranoso** composto di batteri, muco, fibrina, cellule infiammatorie e detriti cellulari, che riveste un epitelio ulcerato.



Clostridium perfringens

Ubiquitario in natura (spore). Presente come flora (in forma vegetativa) in vagina e tratto gastrointestinale.

Può causare **malattie diverse** molto gravi: infezioni dei tessuti molli, intossicazioni alimentari, setticemia.



Il potere patogeno è dovuto principalmente alla sua capacità di secernere una **gran varietà di ESOTOSSINE, ENTEROTOSSINE e ENZIMI idrolitici**.

Esotossine. Elabora almeno **12 tossine** e i ceppi di *C. perfringens* sono raggruppati da A a E in base alla gamma delle esotossine prodotte. La **tossina α** , la più importante e l'unica prodotta da tutti i ceppi, è una citolisina.

Enterotossina. Piccola proteina termolabile, si lega a recettori dell'epitelio nell'intestino tenue ed altera la permeabilità di membrana (rilascio di ioni e fluidi).

Enzimi degradativi. Proteasi, ialuronidasi, collagenasi, ecc. che distruggono i tessuti e promuovono la diffusione dell'infezione

IMPORTANZA CLINICA

Gangrena gassosa o **mionecrosi**. Le **spore** introdotte (ferite, traumi, ecc.) germinano: le **tossine** prodotte causano morte cellulare e gli **enzimi** distruggono il tessuto, favorendo la diffusione dell'infezione. La fermentazione dei carboidrati tissutali produce **GAS**, che si accumula nel sottocutaneo e produce un caratteristico crepitio alla palpazione (da cui il nome). Le tossine poi diffondono ad altri siti, con **effetti sistemici** (shock, blocco renale, emolisi intravascolare, ecc.). La mionecrosi non trattata può portare a morte entro alcuni giorni dall'inizio della sintomatologia.

Cellulite anaerobia. Infezione del **connettivo**, senza invasione del tessuto muscolare. Si ha una diffusione della crescita batterica lungo i piani fasciali (fascite).

Intossicazione alimentare. Malattia comune dovuta alla **tossina**, con breve incubazione (8-18h), con crampi addominali e diarrea acquosa. Guarigione in 1-2 giorni. Di solito causata da una cottura non sufficiente per eliminare le spore: se il cibo non viene refrigerato si ha germinazione del batterio che produce la tossina. Questa può essere distrutta dal riscaldamento.



FIGURA 37-4. Cellulite da clostridio. I clostridi possono essere introdotti nei tessuti durante un intervento chirurgico o in seguito ad un trauma. Questo paziente ha subito una frattura composta della tibia. Cinque giorni dopo il trauma, la cute ha perso colore e si sono sviluppate bolle e necrosi. Si poteva osservare un essudato sieroso e produzione di gas nel sottocutaneo, ma non c'era nessuna evidenza di necrosi muscolare; il paziente guariva senza reliqui. (Da Lambert H, Farrar W, editors: Infectious diseases illustrated, London, 1982, Gower).

Enterite necrotizzante. Malattia sporadica con mortalità >50%: **necrosi acuta del digiuno**, con dolori addominali, diarrea sanguinolenta, peritonite e shock.

Endometrite da clostridi. Grave complicanza di aborti compiuti con l'uso di strumenti insufficientemente sterilizzati: si ha infezione gangrenosa del tessuto uterino, seguita da tossiemia e batteriemia. Possibile esito letale.