

Principi di
**MICROBIOLOGIA
MEDICA**

III edizione

a cura di

Guido Antonelli • Massimo Clementi
Gianni Pozzi • Gian Maria Rossolini



CASA EDITRICE AMBROSIANA

Indice generale

Prefazione alla terza edizione
Introduzione alla Microbiologia medica

A BATTERIOLOGIA MEDICA

1 Classificazione dei batteri

Alessandra Giordano, Giammarco Raponi, Antonio Toniolo

Tassonomia convenzionale (fenotipica)

Metodi chimici: analisi di costituenti batterici
Test biochimici per l'identificazione batterica
Test fisici

Tassonomia genotipica: ibridazione

DNA/DNA, analisi dell'rRNA, sequenziamento genico

Nomenclatura

Albero filogenetico dei batteri

2 Cellula batterica

Anna Marchese

Componenti fondamentali

Citoplasma e cromosoma
Membrana citoplasmatica
Parete

Componenti accessori

Pili
Flagelli
Glicocalice e capsula
Plasmidi

3 Metabolismo batterico

Valeria Pietropaolo, Maria Trancassini, Mauro Nicoletti

Fonti di energia per i microrganismi

XIX	Fermentazioni batteriche	A-28
	Respirazione batterica	A-31
XX	Respirazione anaerobia	A-34

4 Genetica e genomica batterica

Francesco Iannelli, Francesco Santoro

A-1	Il genoma batterico	A-36
	Il mobiloma batterico	A-41
	Plasmidi	A-41
	Batteriofagi	A-42
	Elementi genetici trasponibili	A-42
A-4	Evoluzione del genoma batterico	A-46
	Mutazioni	A-46
	Ricombinazione genetica	A-47
A-5	Trasferimento genico orizzontale	A-49
A-6	Sequenziamento genico e genomico	A-54

5 Riproduzione e crescita

Rosa Sessa

A-8	Crescita e divisione	A-58
	Misura dell'accrescimento nei batteri	A-59
A-12	Curva di crescita batterica	A-59
	Fase di latenza	A-60
	Fase esponenziale	A-60
A-13	Fase stazionaria	A-61
	Fase di morte	A-61
A-15	Colture continue	A-61
A-17	Fattori che influenzano la crescita	A-61
	dei microrganismi	A-61
A-22	Spora batterica	A-62
	Stadi morfologici di formazione	A-62
A-22	della spora	A-63
A-23	Struttura della spora	A-64
	Regolazione della sporulazione	A-64
A-23	Caratteristiche delle endospore	A-64
A-24	Trasformazione delle spore nelle cellule	A-65
	vegetative	A-65
A-25	Importanza delle spore	A-65
A-26		A-65

6 Patogenicità e virulenza

*Paola Salvatore, Carmelo Bruno Bruni,
Roberta Colicchio*

**Interazione ospite-parassita dal punto
di vista ecologico**

Infекzioni latenti e stato di portatore

Virulenza

**Patogenicità e virulenza nell'era
post-genomica**

Versione molecolare dei postulati di Koch

Fasi del processo patogenetico

Adesione e colonizzazione delle superfici

Biofilm batterici

Invasione, crescita e moltiplicazione
del parassita nell'ospite

Cambiamenti adattativi della virulenza

Tropismo

Fattori di virulenza

Endotossine

Superantigeni

Tossina difterica

Tossina tetanica e tossina botulinica

Enterotossine

Quorum sensing

Isole di patogenicità

Sistemi di trasporto delle cellule batteriche

7 Risposta dell'ospite alle infекzioni batteriche

Giuseppe Teti

Significato delle difese antimicrobiche

Difese a livello delle superfici

Microbiota normale

Barriere anatomiche e chimiche

Sistema immunitario

Riflessività del sistema immune

Due tipi di immunità

Immunità adattativa

Meccanismi effettori del sistema immune

Immunità innata

8 Diagnosi batteriologica

Antonella Lupetti, Mario Campa

Diagnosi diretta

Raccolta del materiale biologico

Invio del campione

Esame batterioscopico diretto

Esame colturale

Identificazione

A-67	Antibiogramma	A-135
	Diagnosi rapida	A-135
	Diagnosi indiretta	A-138
	Determinazioni sierologiche	A-138
A-68		
A-70	9 Farmaci antibatterici	A-141
A-71	<i>Gian Maria Rossolini, Lucia Pallecchi</i>	
A-73	Definizioni e classificazione dei farmaci antibatterici	A-141
A-74	Antibatterici che agiscono bloccando la sintesi del peptidoglicano	A-142
A-75	Antibatterici che agiscono danneggiando le membrane batteriche	A-142
A-77	Antibatterici che agiscono bloccando le DNA topoisomerasi batteriche	A-143
A-79	Antibatterici che agiscono bloccando la trascrizione	A-145
A-80	Antibatterici che agiscono bloccando la sintesi proteica	A-146
A-81	Antibatterici che agiscono bloccando la sintesi dei folati	A-149
A-82	Antibatterici che agiscono con meccanismi diversi	A-150
A-85		
A-87	Metodiche per la valutazione dell'attività dei farmaci antibatterici in vitro	A-150
A-88		
A-89	La resistenza ai farmaci antibatterici	A-151
A-91	Meccanismi di resistenza dovuti a inattivazione del farmaco	A-153
A-92	Meccanismi di resistenza dovuti a modifica del bersaglio molecolare del farmaco o a vicariamento della sua funzione	A-155
A-94	Meccanismi di resistenza dovuti a impermeabilità o efflusso attivo	A-157
A-94	Un particolare meccanismo di resistenza agli antibiotici: la tolleranza dei biofilm batterici	A-157
A-98		
A-98	Resistenza intrinseca e resistenza acquisita	A-158
A-99		
A-100		
A-102		
A-102		
A-103		
A-106		
A-109		
A-109		
A-125		
A-125		
A-126		
A-127		
A-127		
A-134		
	10 Il microbiota umano	A-160
	<i>Maria Pia Conte, Donata Medaglini, Serena Schippa</i>	
	L'uomo come habitat	A-161
	Ruolo del microbiota umano	A-162
	Microbiota umano e infекzioni opportuniste	A-162
	Microbiota intestinale	A-163
	Microbiota vaginale	A-165
	Microbiota della cute	A-166
	Microbiota del tratto respiratorio	A-167

11 Batteri sporigeni	A-168	Sensibilità e resistenza agli antibiotici	A-200
<i>Emilia Ghelardi, Sonia Senesi</i>		Vaccini	A-201
Genere <i>Bacillus</i>	A-168	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	A-201
<i>Bacillus anthracis</i>	A-168	Genoma	A-201
<i>Bacillus cereus</i>	A-171	Identificazione di laboratorio	A-201
Genere <i>Clostridium</i>	A-171	Capsula e tipizzazione	A-202
<i>Clostridium tetani</i>	A-172	Costituenti cellulari, strutture	
<i>Clostridium botulinum</i>	A-174	di superficie, patogenicità	A-202
<i>Clostridium perfringens</i>	A-176	Habitat	A-203
<i>Clostridium difficile</i>	A-178	Manifestazioni cliniche	A-203
		Sensibilità e resistenza agli antibiotici	A-203
	A-179	Vaccini	A-204
12 <i>Corynebacterium</i>		<i>Streptococcus agalactiae</i>	A-204
<i>Ioletta Santino</i>		Altri streptococchi beta-emolitici	A-204
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	A-180	<i>Streptococcus suis</i>	A-205
Morfologia	A-180	Streptococchi "viridanti"	A-205
Patogenicità	A-180		
Diagnosi	A-182		
Indagini sierologiche	A-183		
Sensibilità e resistenza agli antibiotici	A-183		
Vaccini	A-183		
Altri corinebatteri di interesse medico	A-183		
13 <i>Stafilococchi</i>	A-186	15 <i>Enterococchi</i>	A-207
<i>Pietro E. Varaldo</i>		<i>Pietro E. Varaldo</i>	
<i>Staphylococcus aureus</i>	A-187	Specie	A-207
Identificazione di laboratorio	A-187	Ecologia	A-207
Tipizzazione	A-187	Enterococchi e alimenti	A-207
Costituenti cellulari e strutturali	A-187	Identificazione di laboratorio	A-208
Sostanze solubili (esotossine, esoenzimi)	A-188	Patogenicità degli enterococchi e patogenesi	
Colonizzazione	A-189	delle infezioni	A-208
Azione patogena e significato clinico	A-189	Manifestazioni cliniche, infezioni	
Sensibilità e resistenza agli antibiotici	A-190	nosocomiali	A-209
Stafilococchi coagulasi-negativi	A-192	Sensibilità e resistenza agli antibiotici	A-209
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	A-192		
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	A-192		
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	A-192		
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	A-193		
14 <i>Streptococchi</i>	A-194	16 <i>Enterobacteriaceae</i>	A-211
<i>Pietro E. Varaldo</i>		<i>Laura Pagani</i>	
<i>Streptococcus pyogenes</i>	A-195	Fisiologia e struttura	A-211
Genoma	A-195	Caratteristiche comuni a tutta la famiglia	
Identificazione di laboratorio	A-195	<i>Enterobacteriaceae</i>	A-211
Costituenti cellulari e strutture	A-195	Antigeni maggiori delle	
di superficie	A-196	<i>Enterobacteriaceae</i>	A-211
Prodotti esocellulari	A-197	Resistenza antimicrobica	A-216
Azione patogena e regolazione dei fattori	A-198	<i>Escherichia coli</i>	A-218
di virulenza	A-198	Antigeni	A-218
Habitat	A-199	Patogenesi	A-218
Manifestazioni cliniche	A-199	Patologie principali	A-218
		<i>Shigella</i>	A-221
		Antigeni	A-221
		Patogenesi	A-221
		Patologie principali	A-222
		<i>Yersinia</i>	A-222
		<i>Yersinia enterocolitica</i>	A-223
		<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	A-223
		<i>Yersinia pestis</i>	A-224

Altre *Enterobacteriaceae*

- Klebsiella* A-225
Enterobacter A-225
Serratia A-226
Proteus A-226
Providencia, Morganella A-227
Citrobacter A-227

Diagnosi di laboratorio

- Esame culturale A-227
Identificazione biochimica A-227
Identificazione molecolare A-227
Identificazione sierologica A-227

Sensibilità agli antibiotici**Profilassi e controllo****17 *Salmonella****Salvatore Rubino***I fattori di virulenza di *Salmonella*****18 *Pseudomonas aeruginosa* e altri bacilli gram-negativi non fermentanti***Lucilla Dolzani, Enrico A. Tonin****Pseudomonas aeruginosa***

- Patogenesi A-232
Pili, flagello e LPS A-233
Produzione di fattori extracellulari A-234
Processi infettivi da *Pseudomonas aeruginosa* A-235
Identificazione A-237
Antibiotico-resistenza A-237

Pseudomonas putida, Pseudomonas stutzeri, Pseudomonas fluorescens***Pseudomonas otitidis******Acinetobacter baumannii***

- Fattori di virulenza A-239
Processi infettivi da *A. baumannii* A-239
Antibiotico-resistenza A-240

Burkholderia cepacia complex

- Fattori di virulenza A-241
Terapia antibiotica A-241

Stenotrophomonas maltophilia**19 *Vibroni****Pietro Cappuccinelli****Vibrio cholerae***

- Caratteristiche generali A-243
Meccanismi di patogenicità A-244
Patologia A-245
Diagnosi di laboratorio A-246
Epidemiologia, prevenzione, controllo A-246

A-225

A-225

A-225

A-226

A-226

A-227

A-227

A-227

A-227

A-227

A-228

A-228

A-229

A-229

A-230

A-232

A-232

A-233

A-234

A-234

A-235

A-237

A-237

A-238

A-238

A-239

A-239

A-240

A-240

A-241

A-241

A-242

A-242

A-243

A-243

A-244

A-245

A-246

A-246

A-247

A-247

A-248

A-248

A-249

A-249

A-250

A-250

A-251

A-251

A-252

A-252

A-253

A-253

A-254

A-254

A-255

A-255

A-255

A-256

A-256

A-256

A-257

A-257

A-258

A-258

A-259

A-259

A-260

A-261

A-261

A-262

A-262

A-263

A-263

A-264

A-264

A-265

A-265

A-266

A-266

A-267

A-267

A-268

A-268

A-269

A-269

A-270

A-270

A-278

A-278

A-280

A-280

A-287

A-287

20 *Campylobacter*

A-248

*Pietro Cappuccinelli***Caratteristiche generali**

A-248

Patogenicità

A-249

Manifestazioni cliniche

A-249

Diagnosi microbiologica

A-250

Epidemiologia, prevenzione e controllo

A-251

21 *Haemophilus*

A-252

*Elisabetta Blasi, Rachele Neglia, Samuele Peppoloni***Classificazione**

A-252

Meccanismi patogenetici

A-253

Manifestazioni cliniche

A-253

Diagnosi di laboratorio

A-254

Identificazione diretta

A-254

Coltura e identificazione

A-255

Indagini sierologiche

A-255

Epidemiologia

A-256

Terapia e profilassi

A-256

22 *Bordetella*

A-258

*Elisabetta Blasi, Rachele Neglia, Samuele Peppoloni***Classificazione**

A-258

Meccanismi patogenetici

A-258

Manifestazioni cliniche

A-260

Diagnosi di laboratorio

A-261

Epidemiologia, terapia e profilassi

A-261

23 *Brucella*

A-263

*Elisabetta Blasi, Rachele Neglia, Samuele Peppoloni***Classificazione**

A-263

Meccanismi patogenetici

A-265

Manifestazioni cliniche

A-265

Diagnosi di laboratorio

A-266

Epidemiologia

A-266

Terapia e profilassi

A-267

24 *Neisseria*

A-268

*Paola Salvatore, Carmelo Bruno Bruni, Chiara Pagliuca***Morfologia e identificazione**

A-268

Meccanismi di virulenza e patogenicità

A-270

Diagnosi di laboratorio

A-278

Epidemiologia e prevenzione

A-280

della malattia meningococcica

A-280

Epidemiologia della malattia gonococcica

A-287

25 Micobatteri			
<i>Giovanni Delogu, Carlo Garzelli, Laura Rindi</i>			
Classificazione e caratteri generali	A-292	<i>M. pneumoniae</i>	A-335
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	A-293	I micoplasmi genitali	A-335
Epidemiologia	A-295	Diagnosi	A-336
Caratteristiche generali	A-295	Controllo delle infezioni	A-337
Patogenesi	A-297		
Vaccino	A-298		
Terapia	A-299		
<i>Mycobacterium leprae</i>	A-300	28 Rickettsie	A-338
<i>Mycobacterium ulcerans</i>	A-301	<i>Iolanda Santino</i>	
Altri micobatteri	A-302	Morfologia	A-338
Diagnosi microbiologica di infezione da micobatteri	A-302	Patogenicità	A-339
Esame microscopico	A-304	Gruppo del tifo	A-339
Esame colturale	A-306	Gruppo della febbre maculosa	A-340
Identificazione	A-307	Diagnosi	A-341
Diagnosi molecolare	A-308	Sensibilità e resistenza	A-342
Farmaco-sensibilità	A-308	Vaccini	A-342
Test fenotipici per <i>M. tuberculosis</i>	A-308		
Test molecolari per <i>M. tuberculosis</i>	A-309		
Micobatteri non tubercolari	A-309		
Diagnosi immunologica di infezione tubercolare	A-310	29 Clamidie	A-343
Test tubercolinico	A-310	<i>Anna Giannanco, Maria Milici</i>	
Test IGRA	A-311	Tassonomia	A-343
	A-313	Morfologia, struttura e modalità replicative	A-344
26 Spirochete		Caratteristiche metaboliche	A-346
<i>Elisabetta Riva, Giovanni Gherardi</i>		Genoma	A-346
Genere <i>Treponema</i>	A-314	Antigeni	A-347
<i>Treponema pallidum</i> subsp. <i>pallidum</i>	A-316	Coltivazione	A-347
Genere <i>Borrelia</i>	A-321	Spettro d'ospite	A-348
Malattia di Lyme	A-322	Sensibilità agli agenti antimicrobici	A-348
Febbre ricorrente: patogenesi	A-323	Patogenesi	A-349
e manifestazioni cliniche	A-328	Manifestazioni cliniche	A-349
Genere <i>Leptospira</i>	A-328	<i>Chlamydia trachomatis</i>	A-350
Patogenesi e manifestazioni cliniche	A-329	<i>Chlamydia psittaci</i>	A-351
Epidemiologia	A-330	<i>Chlamydia pneumoniae</i>	A-351
Diagnosi di laboratorio	A-332	Diagnosi	A-352
Terapia e prevenzione	A-322	Terapia e prevenzione	A-352
	A-323		
27 Micoplasmi patogeni per l'uomo	A-328	30 Helicobacter	A-354
<i>Paola Rappelli, Pier Luigi Fiori</i>	A-328	<i>Giuseppe Miragliotta, Adriana Mosca</i>	
Struttura e morfologia	A-329	Classificazione	A-354
Epidemiologia e diffusione	A-330	<i>Helicobacter pylori</i>	A-354
Patogenesi	A-332	Caratteristiche morfologiche	
	A-333	e biochimiche	A-354
	A-333	Caratteristiche culturali	A-355
	A-334	Epidemiologia e trasmissione	
	A-334	dell'infezione	A-355
	A-334	Patogenesi dell'infezione e malattie	
	A-334	associate	A-355
	A-334	Diagnostica	A-357
	A-334	Sensibilità antibiotica e terapia	A-357

31 Legionelle*Giuseppe Miragliotta, Adriana Mosca***Classificazione**

A-358

Difterite

A-388

Tetano

A-389

Pertosse

A-389

Tubercolosi

A-389

Malattie da *Haemophilus influenzae*, tipo b (emofilo)

A-389

Malattie da *Streptococcus pneumoniae* (pneumococco)

A-389

Malattie da *Neisseria meningitidis* (meningococco)

A-390

Caratteristiche morfologiche e biochimiche

A-358

Caratteristiche culturali

A-359

Habitat

A-359

Aspetti patogenetici: fattori di virulenza

A-360

Quadri clinici

A-361

Aspetti epidemiologici

A-361

Diagnostica di laboratorio

A-362

Sensibilità antibiotica

A-362

32 Microbiologia del cavo orale*Giovanna Batoni, Mario Campa***L'ecosistema orale**

A-363

Acquisizione della flora orale

A-363

La placca dentale: un perfetto esempio di biofilm

A-365

Formazione del biofilm orale

Interazioni microbiche nel biofilm orale

Omeostasi microbica nella placca dentale

A-366

Carie dentale e batteri cariogeni

A-367

Principali gruppi di batteri associati alla carie dentale

A-368

Determinanti di patogenicità dei batteri cariogeni

A-369

Modello di sviluppo della carie: la successione batterica nella lesione cariosa

A-370

Parodontopatie e batteri parodontopatogeni

A-371

Principali batteri parodontopatogeni

A-373

Determinanti di patogenicità dei batteri parodontopatogeni

A-375

Infezioni dell'endodonto

A-377

Generalità sulle infezioni micotiche del cavo orale

A-378

Generalità sulle infezioni virali del cavo orale

A-381

33 Vaccini in Microbiologia medica*Gianni Pozzi***Storia naturale dell'infezione****Tipi di vaccino**

Vaccini basati su microrganismi interi

Vaccini basati su parti di microrganismi

Vaccini a DNA

Vaccini basati su vettori transgenici

A-383

Principali vaccini contro le malattie batteriche

A-387

Effetto della replicazione virale

sulla cellula ospite

A-386

Alterazioni morfologiche

A-386

Alterazioni nella sintesi delle

A-387

macromolecole cellulari

A-388

Alterazione della composizione

A-388

antigene

A-388

Alterazione del controllo

A-388

della proliferazione cellulare

B-23

B-22

B-22

B-22

B-23

37 Patogenesi delle infezioni virali*Guido Antonelli, Massimo Clementi***Modalità di trasmissione**

B-24

B-24

Eliminazione del virus dall'organismo	B-25	della componente cellulo-mediata dell'immunità acquisita	B-58
Prima replicazione del virus e sua diffusione nell'organismo	B-26	Esempi di meccanismi di evasione della componente umorale dell'immunità acquisita	B-58
Danni provocati dall'infezione virale all'organismo ospite	B-29		
Potenziale patogeno, virulenza e persistenza	B-30		
Fattori cellulari e/o dell'ospite che influenzano la patogenesi delle malattie da virus	B-32		
Rapporto virus-organismo ospite	B-35		
Progressione clinica delle infezioni virali	B-36		
 38 Oncogenesi virale			
<i>Ombretta Turriziani</i>			
Deossiribovirus oncogeni	B-38	Indagini sierologiche	B-73
Poliomavirus e adenovirus		Saggi funzionali	B-74
Papillomavirus (HPV)		Saggi su membrana	B-75
Herpesvirus		Saggi di legame	B-75
Virus dell'epatite B (HBV)	B-39		
Ribovirus oncogeni	B-41	Diagnosi di infezioni congenite e neonatali	B-76
Retrovirus	B-42	Conclusioni	B-77
Virus dell'immunodeficienza umana di tipo 1 e 2 (HIV-1 e HIV-2)	B-44		
Virus dell'epatite C (HCV)	B-45		
	B-45	 41 Herpesviridae (herpesvirus umani)	B-78
	B-46	<i>Santo Landolfo</i>	
	B-47	Struttura degli herpesvirus	B-78
		Replicazione	B-79
		Virus herpes simplex (HSV-1, HSV-2)	B-81
	B-48	Proprietà del virus	B-81
		Struttura	B-82
		Replicazione	B-82
	B-48	Meccanismi patogenetici	B-83
		Infezioni primarie	B-83
		Infezioni latenti	B-84
	B-48	Epidemiologia	B-84
		Manifestazioni cliniche	B-85
		Diagnosi di laboratorio	B-87
		Terapia e profilassi	B-87
	B-51	Virus della varicella-zoster (VZV)	B-88
	B-51	Proprietà del virus	B-88
	B-52	Meccanismi immunopatogenetici	B-88
	B-52	Manifestazioni cliniche	B-90
	B-54	Diagnosi di laboratorio	B-91
		Terapia e profilassi	B-91
	B-51	Virus di Epstein-Barr (EBV)	B-91
	B-56	Proprietà del virus: struttura e replicazione	B-92
	B-56	Meccanismi patogenetici	B-92
	B-56	Manifestazioni cliniche	B-93
		Diagnosi di laboratorio	B-95
		Terapia e profilassi	B-95
	B-57	Citomegalovirus (CMV)	B-96
		Proprietà del virus	B-96

Meccanismi patogenetici e immunità	B-96	Bocavirus umano (BoV)	B-120
Epidemiologia e manifestazioni cliniche	B-96	Parvovirus 4 (PARV4)	B-121
Diagnosi di laboratorio	B-98	Bufavirus (BuPV)	B-122
Terapia e profilassi	B-99		
Herpesvirus umano 6 (HHV-6)	B-99		
Proprietà del virus	B-99	44 Papillomaviridae	B-124
Meccanismi patogenetici e immunità	B-99	(papillomavirus umani)	
Manifestazioni cliniche	B-99	<i>Marisa Gariglio</i>	
Diagnosi di laboratorio	B-100	Classificazione	B-124
Herpesvirus umano 7 (HHV-7)	B-100	Struttura	B-127
Herpesvirus umano 8 (HHV-8)	B-100	Replicazione	B-128
(Herpes virus associato al sarcoma di Kaposi)	B-100	Meccanismi patogenetici	B-129
Herpesvirus animali di interesse medico	B-100	Manifestazioni cliniche	B-131
		Infezioni anogenitali esterne	B-131
		Infezioni dell'apparato genitale femminile	B-131
		Infezioni della cute	B-132
		Infezioni del distretto testa/collo	B-132
42 Adenoviridae	B-102	Diagnosi di laboratorio	B-133
<i>Stefano Menzo</i>		Epidemiologia	B-133
Classificazione	B-102	Terapia e profilassi	B-134
Struttura	B-103		
Replicazione e interferenze con la biologia			
della cellula	B-104	45 Polyomaviridae	B-136
Adsorbimento e penetrazione	B-104	<i>Roberta Rizzo, Dario Di Luca</i>	
Espressione dei geni precoci e interferenze		Classificazione	B-136
con il ciclo cellulare	B-105	Struttura del virione e del genoma	B-136
Replicazione del genoma virale	B-106	Replicazione	B-137
Espressione dei geni tardivi e assemblaggio		Patogenesi	B-139
dei virioni	B-106	Sindromi cliniche	B-140
Interferenze con il sistema immunitario	B-107	BKPyV	B-140
Meccanismi patogenetici	B-108	JCPyV	B-140
Manifestazioni cliniche	B-108	MCPyV	B-140
Manifestazioni a carico delle vie aeree	B-108	TSPyV	B-141
Cheratocongiuntivite epidemica	B-109	WUPyV e KIPyV	B-141
Infezioni enteriche	B-110	Epidemiologia	B-141
Cistite emorragica	B-110	Poliomavirus umani e neoplasie umane	B-141
Miocardite	B-110	Diagnosi di laboratorio	B-142
Infezioni in soggetti immunodepressi	B-110	Terapia	B-142
Diagnosi di laboratorio	B-110	Poliomavirus SV40	B-142
Terapia	B-111		
Vaccini e vettori adenovirali	B-111		
43 Virus B19 e altri parvovirus	B-113	46 Poxviridae	B-144
<i>Fabrizio Maggi</i>		<i>Maria Grazia Cusi</i>	
Virus B19	B-113	Classificazione	B-144
Struttura	B-114	Struttura	B-145
Replicazione	B-116	Replicazione	B-146
Meccanismi patogenetici	B-116	Meccanismi patogenetici	B-147
Manifestazioni cliniche	B-117	Poxvirus causa di malattia nell'uomo	B-148
Diagnosi di laboratorio	B-118	Vaiolo umano e malattia da virus vaccinico	B-148
Epidemiologia – Immunità	B-119	Mollusco contagioso	B-149
Terapia	B-119	Altri poxvirus d'interesse umano	B-149
Virus adeno-associati (VAA)	B-119		

Diagnosi di laboratorio	B-150	Diagnosi di laboratorio	B-178
Terapia e profilassi	B-150	Epidemiologia – Immunità	B-178
Poxvirus come vettori virali per prevenzione e terapia	B-150	Terapia	B-180
47 Anellovirus e virus simili	B-152	Metapneumovirus	B-180
<i>Fabrizio Maggi</i>		Meccanismi patogenetici –	
Torquetenovirus (TTV)	B-152	Patologie associate all'infezione	B-180
Struttura	B-153	Diagnosi di laboratorio	B-180
Replicazione	B-154	Epidemiologia – Immunità	B-180
Meccanismi patogenetici - Patologie associate all'infezione	B-154	Terapia	B-181
Diagnosi di laboratorio	B-155	Virus del morbillo	B-181
Epidemiologia - Immunità	B-156	Meccanismi patogenetici –	
Torquetenomidi virus (TTMDV)	B-156	Patologie associate all'infezione	B-181
Torquetenomini virus (TTMV)	B-157	Diagnosi di laboratorio	B-183
Virus simili agli anellovirus	B-159	Epidemiologia – Immunità	B-183
48 Orthomyxoviridae - virus dell'influenza	B-159	Terapia	B-184
<i>Guido Antonelli</i>		Virus della parotite	B-184
Classificazione e tipi	B-159	Meccanismi patogenetici –	
Struttura e morfologia	B-160	Patologie associate all'infezione	B-184
Replicazione	B-161	Diagnosi di laboratorio	B-185
Meccanismi patogenetici – Patologie associate all'infezione – Immunità	B-163	Epidemiologia – Immunità	B-186
Diagnosi di laboratorio	B-164	Terapia	B-186
Epidemiologia	B-165	Virus Hendra e Nipah	B-186
Antigenic drift	B-165	Meccanismi patogenetici –	
Antigenic shift	B-166	Patologie associate all'infezione	B-186
Influenza aviaria	B-167	Diagnosi di laboratorio	B-187
Terapia e profilassi	B-168	Epidemiologia - Immunità	B-187
Vaccini	B-169	Terapia	B-187
Thogotovirus	B-170	50 Reoviridae	B-188
49 Paramyxoviridae	B-171	<i>Rossana Cavallo, Cristina Costa</i>	
<i>Mauro Pistello, Maria Grazia Cusi</i>		Rotavirus	B-189
Classificazione	B-171	Classificazione e tipi	B-189
Struttura	B-172	Struttura e morfologia	B-190
Replicazione	B-175	Replicazione	B-191
Virus parainfluenzali	B-176	Orthoreovirus	B-195
Meccanismi patogenetici –	B-176	Classificazione e tipi	B-195
Patologie associate all'infezione	B-177	Struttura e morfologia	B-195
Diagnosi di laboratorio	B-177	Replicazione	B-196
Epidemiologia – Immunità	B-177	Coltivirus	B-197
Terapia	B-178	Seadornavirus	B-198
Virus respiratorio sinciziale	B-178	Orbivirus	B-199
Meccanismi patogenetici –	B-178	51 Flaviviridae	B-200
Patologie associate all'infezione	B-178	<i>Massimo Clementi, Aldo Manzin</i>	
	B-178	Virus dell'epatite C (HCV)	B-200
	B-178	Struttura del virione e organizzazione del genoma	B-201
	B-178	Proteine del virus	B-202
	B-178	Ciclo replicativo	B-202
	B-178	Variabilità genetica	B-203

Virus GBV-C (virus dell'epatite G, HGV)	B-211	Replicazione	B-241
Flavivirus	B-211	Enterovirus	B-243
Virus della febbre gialla	B-212	Poliovirus	B-243
Virus Dengue	B-212	Enterovirus non-polio	B-246
West Nile Disease Virus	B-213	Rinovirus	B-248
Virus dell'encefalite di St. Louis, virus dell'encefalite giapponese e virus dell'encefalite di Murray Valley	B-214	Meccanismi patogenetici	B-249
Virus Zika	B-215	Epidemiologia, diagnosi e terapia	B-250
	B-217	Hepatovirus	B-250
	B-217	Meccanismi patogenetici	B-250
	B-217	Epidemiologia, diagnosi e profilassi	B-251
	52 Caliciviridae		
<i>Rossana Cavallo, Cristina Costa</i>			
Norovirus	B-217	56 Rhabdoviridae	B-253
Classificazione e tipi	B-217	<i>Filippo Canducci</i>	
Struttura e morfologia	B-218	Classificazione	B-253
Replicazione	B-219	Struttura	B-254
Sapovirus	B-222	Replicazione	B-256
	B-224	Trasmissione e patogenesi	B-258
	B-225	Manifestazioni cliniche nell'uomo	B-259
	B-226	Diagnosi	B-260
	B-227	Aspetti epidemiologici	B-260
	B-228	Controllo, profilassi e trattamento	B-261
	57 Arenaviridae		
<i>Concetta Ilenia Palermo, Guido Scalia</i>			
Classificazione e tipi	B-229	Classificazione e tipi	B-263
Struttura e morfologia	B-230	Struttura e morfologia	B-264
Replicazione	B-230	Replicazione	B-266
Patogenesi e manifestazioni cliniche – Patogenicità	B-230	Patogenesi e manifestazioni cliniche – Patogenicità	B-267
Lassa virus	B-230	Lassa virus	B-267
Virus della coriomeningite linfocitaria	B-230	Virus della coriomeningite linfocitaria	B-267
Junin virus	B-230	Junin virus	B-268
Machupo, Guanarito, Sabia	B-230	Machupo, Guanarito, Sabia	B-268
Epidemiologia	B-232	Epidemiologia	B-268
Diagnosi	B-232	Diagnosi	B-268
Terapia e profilassi	B-232	Terapia e profilassi	B-269
	58 Bunyaviridae		
<i>Concetta Ilenia Palermo, Guido Scalia</i>			
Classificazione bunyavirus	B-236	Classificazione bunyavirus	B-271
Struttura e morfologia	B-238	Struttura e morfologia	B-272
Replicazione	B-239	Replicazione	B-274
Patogenesi e manifestazioni cliniche – Patogenicità	B-240	Patogenesi e manifestazioni cliniche – Patogenicità	B-275
Trasmissione ed epidemiologia	B-240	Trasmissione ed epidemiologia	B-276
Diagnosi	B-240	Diagnosi	B-276
Terapia e profilassi	B-240	Terapia e profilassi	B-277
	55 Picornaviridae		
<i>Alessandra Pierangeli</i>			
Classificazione	B-240		
Struttura	B-240		

59 Filovirus	B-278	Diagnosi	B-311
<i>Guido Antonelli, Fabrizio Maggi</i>		Terapia e vaccini	B-311
Classificazione	B-278		
Virus Ebola (EBOV)	B-278		
Struttura	B-278		
Repliсazione	B-280		
Meccanismi patogenetici – Immunità –	B-280		
Patologie associate all'infezione	B-282		
Diagnosi di laboratorio	B-283		
Epidemiologia – Controllo	B-284		
Virus di Marburg (MARV)			
60 Hepeviridae	B-286		
<i>Patrizia Bagnarelli</i>			
Classificazione	B-287		
Morfologia e struttura	B-288		
Repliсazione	B-289		
Meccanismi patogenetici – Patologie	B-290		
associate all'infezione	B-292		
Diagnosi di laboratorio	B-293		
Epidemiologia	B-295		
Terapia e profilassi - Vaccini	B-296		
61 Astroviridae	B-297		
<i>Roberta Rizzo, Dario Di Luca</i>			
Classificazione	B-298		
Struttura del virione e genoma	B-298		
Repliсazione	B-299		
Patogenesi	B-300		
Epidemiologia	B-300		
Diagnosi di laboratorio	B-301		
Terapia	B-301		
62 Retroviridae: classificazione	B-303		
e HTLV			
<i>Maria Carla Re</i>			
Retroviridae	B-303		
Classificazione	B-303		
HTLV-1 e HTLV-2	B-304		
Classificazione	B-304		
Struttura e morfologia	B-305		
Repliсazione	B-307		
Variabilità genetica	B-308		
Epidemiologia	B-309		
Trasmissione	B-309		
Patologie associate a HTLV-1	B-309		
HTLV-1 e HAM/TPS	B-310		
Patologie associate a HTLV-2	B-310		
63 Lentivirus di interesse umano:			
HIV-1 e -2			
<i>Carlo Federico Perno, Emanuela Balestra</i>			
Classificazione			
Struttura e morfologia			
Genoma e proteine			
Geni regolatori			
Tropismo cellulare e recettori virali			
Repliсazione			
Adsorbimento e penetrazione			
Trascrizione dell'RNA in DNA			
Integrazione del DNA			
Sintesi delle proteine - Maturazione			
dei virioni			
Patogenesi			
Meccanismi patogenetici			
Manifestazioni cliniche			
Diagnosi di laboratorio			
Epidemiologia			
Terapia			
Farmaco-resistenza e monitoraggio			
dei pazienti			
Vaccini			
64 Hepadnaviridae			
<i>Massimo Clementi</i>			
Struttura			
Organizzazione del genoma e			
proteine virali			
Repliсazione			
Varianti virali			
Patogenesi			
HBV e carcinoma primitivo del fegato			
Manifestazioni cliniche e diagnosi virologica			
Infezione da HBV a basso livello			
replicativo e infezione "occulta" da HBV			
Il vaccino contro l'infezione da HBV			
Terapia dell'infezione da HBV			
65 Viroidi e virus dell'epatite D			
<i>Aldo Manzin</i>			
Virus dell'epatite D (HDV)			
Struttura del virione e organizzazione			
del genoma			
Ciclo replicativo			

Patogenesi e immunità - manifestazioni cliniche	B-355	Meccanismo d'azione dell'IFN	B-382
Epidemiologia	B-356	Meccanismi di evasione dal sistema IFN	B-385
Diagnosi	B-356	IFN e immunità	B-386
Trattamento	B-357	Applicazioni terapeutiche del sistema IFN	B-387
 66 Prioni			
<i>Maurizio Pocchiari</i>			
Classificazione	B-359	69 Vaccini antivirali	B-390
Struttura	B-359	<i>Nicasio Mancini</i>	
Replicazione	B-359	I vaccini a virus attenuato	B-391
Meccanismi patogenetici	B-360	I vaccini a virus inattivato	B-392
Manifestazioni cliniche	B-362	L'ingegneria genetica e i vaccini	B-393
Principali EST animali	B-362	Vaccini epitope-based	B-394
Malattia cronica debilitante dei cervidi	B-363	Principali vaccini antivirali in uso	B-395
Malattia di Creutzfeldt-Jakob e altre		Vaccino anti-morbillo, anti-parotite,	
EST dell'uomo		anti-rosolia e antivaricella (MPRV)	B-395
Diagnosi	B-364	Vaccino anti-poliomielite	B-395
Epidemiologia	B-365	Vaccino anti-epatite A	B-398
Cenni di terapia	B-366	Vaccino anti-influenza	B-398
Immunità e vaccini	B-367	Vaccino anti-epatite B	B-399
		Vaccino anti-rotavirus	B-399
		Vaccino anti-papillomavirus	B-400
 67 Farmaci antivirali			
<i>Guido Antonelli, Ombretta Turriziani</i>			
Inibitori dell'entrata	B-369	70 Vettori virali nelle biotecnologie mediche	B-401
Inibitori della fusione	B-370	<i>Mauro Pistello</i>	
Inibitori dei corecettori	B-370	Vettori retrovirali e lentivirali	B-401
Inibitori della scapsidazione	B-371	Vettori retrovirali	B-401
Amantadina	B-371	Vettori lentivirali	B-405
Rimantadina	B-371	Vettori adenovirali	B-407
Inibitori della sintesi degli acidi nucleici virali	B-371	Vettori adeno-associati	B-409
Inibitori della DNA polimerasi virale	B-371	Vettori erpetici	B-410
Inibitori della trascrittasi inversa (RT)	B-373	Vettori poxvirali	B-411
Inibitori della RNA polimerasi-RNA dipendente (RpRd)	B-375	Vettori da altri virus	B-411
Inibitori dell'integrasi	B-375	Applicazione e prospettive dei vettori virali in campo biomedico	B-412
Inibitori delle proteasi	B-376		
Inibitori del rilascio	B-377		
Nuovi bersagli della terapia antivirale	B-377		
Resistenza ai farmaci e terapia combinata	B-377		
Altri tipi di intervento	B-378		
 68 Sistema interferon			
<i>Guido Antonelli, Carolina Scagnolari</i>			
Proprietà del sistema IFN	B-379	71 Micologia generale	C-1
Induzione dell'IFN	B-381	<i>Maurizio Sanguinetti, Brunella Posteraro</i>	
		Generalità sui funghi	C-1
		Riproduzione dei funghi	C-3
		Classificazione dei funghi	C-6
		Cellula fungina	C-10
		Parete cellulare	C-11
		Ecologia, patogenicità e virulenza dei funghi	C-14

72 Micologia speciale

Maurizio Sanguinetti, Brunella Posteraro

Classificazione delle micosi

Micosi superficiali

Micosi cutanee

Micosi sottocutanee

Micosi profonde

Istoplasmosi

Morfologia e identificazione

di *Histoplasma capsulatum*

Patogenesi e sindromi cliniche

Diagnosi di laboratorio

Epidemiologia, prevenzione e controllo

Coccidioidomicosi

Morfologia e identificazione

di *Coccidioides*

Patogenesi e sindromi cliniche

Diagnosi di laboratorio

Epidemiologia, prevenzione e controllo

Cryptococcosi

Morfologia e identificazione

di *Cryptococcus neoformans*

Patogenesi e sindromi cliniche

Diagnosi di laboratorio

Epidemiologia, prevenzione e controllo

Candidosi

Morfologia e identificazione di *Candida*

Patogenesi e sindromi cliniche

Diagnosi di laboratorio

Epidemiologia, prevenzione e controllo

Aspergillosi

Morfologia e identificazione di *Aspergillus*

Patogenesi e sindromi cliniche

Diagnosi di laboratorio

Epidemiologia, prevenzione e controllo

73 Farmaci antifungini

Giulia Morace, Elisa Borghi

Meccanismo d'azione

Antifungini sistemicci

Echinocandine

Polieni

(Tri)azoli

S-Fluorocitosina

Determinazione in vitro dell'attività
dei farmaci antifungini e interpretazione
dei risultati

Farmaco-resistenza e biofilm

C-20

D PARASSITOLOGIA MEDICA

74 Parassitologia

D-1

David Modiano, Vincenzo Petrarca,

Fabrizio Lombardo

Generalità sui parassiti

D-1

Protozoi

D-3

Protozoi intestinali e uro-genitali

D-3

Amebiasi o "dissenteria amebica"

D-3

Giardiasi

D-6

Cryptosporidiosi

D-8

Tricomoniasi

D-11

Protozoi tissutali: emoflagellati

D-3

(*Leishmania* e *Trypanosoma*)

D-12

Leishmaniosi cutanea e viscerale

D-13

Tripanosomiasi africana o "malattia
del sonno"

D-16

Tripanosomiasi americana
o "morbo di Chagas"

D-18

Toxoplasmosi

D-20

Malaria

D-24

Metazoi

D-32

Elminti intestinali

D-34

Clonorchiiasi e opistorchiiasi

D-34

Teniasi

D-35

Nematodi intestinali

D-38

Tricuriasi

D-38

Ascaridiosi

D-40

Anchilostomiasi

D-41

Ossiuriasi ("verme dei bambini")

D-43

Elminti tissutali

D-45

Schistosomiasi intestinale da *Schistosoma mansoni* e schistosomiasi vescicale

D-45

da *Schistosoma haematobium*

D-48

Idatidosi da *Echinococcus granulosus*

D-48

Nematodi tissutali

D-50

Elefantiasi tropicale da *Wuchereria bancrofti*
e *Brugia malayi*

D-51

Oncocercosi o "cecità fluviale"

D-52

da *Onchocerca volvulus*

D-54

Dracunculosi da *Dracunculus medinensis*

D-54

("verme di Guinea")

Trichinellosi da specie del genere

D-56

Trichinella

Artropodi

D-58

Chelicerati

D-58

Ordine Acarini

D-58

Zecche dure

D-58

Zecche molli

D-59

Scabbia da *Sarcoptes scabiei*

D-59

Insetti

Pediculosi	D-61	L'avvento della doppia elica e della biologia molecolare	E-5
Pulci	D-64	Il turno dei virus	E-6
<i>Tunga penetrans</i>	D-65	Nuove tecniche, nuovi microrganismi	E-7
Cimici	D-65	One Health, once again	E-7
Ditteri	D-65	Storia dei microrganismi e storia dell'uomo	E-10
Ditteri Nematoceri	D-65		
Zanzare	D-65		
Ditteri Brachiceri	D-67		
Tafani	D-67		
Mosche	D-68		

E APPENDICE**75 Microbi e microbiologi ieri e oggi:
la storia della Microbiologia**

Giuseppe Cornaglia	E-1		
Centralità della Microbiologia	E-1		
Dall'epoca classica al Medioevo	E-1		
Dal Rinascimento alle prime evidenze sperimentali	E-2		
Dal secolo dei lumi al secolo della Microbiologia	E-3		
L'affermarsi della teoria dei germi	E-4		
Il secolo della chemioterapia	E-4		

76 Sterilizzazione e disinfezione

<i>Carlo Zagaglia, Daniela Scribano</i>	E-11		
Sterilizzazione	E-11		
Sterilizzazione mediante calore	E-11		
Controlli di sterilizzazione in autoclave	E-16		
Pastorizzazione	E-16		
Filtrazione	E-17		
Radiazioni	E-17		
Disinfezione	E-18		
Principali disinfettanti e antisettici	E-20		

**77 Emergenza e riemergenza
dei microrganismi patogeni
e delle malattie infettive**

<i>Guido Antonelli, Massimo Clementi</i>	E-24		
Fonti iconografiche	F-1		
Indice analitico	F-3		

Prefazione alla terza edizione

La terza edizione di *Principi di Microbiologia Medica*, che vede la luce a circa cinque anni dalla precedente edizione, si presenta fortemente rinnovata. La revisione ha riguardato, anche se in misura diversa, tutte le sezioni in cui è articolato il volume: Batteriologia, Virologia, Micologia e Parassitologia. È stata aggiunta inoltre un'appendice su argomenti di grande rilevanza in ambito microbiologico che spesso non trovano spazio nei programmi di Microbiologia svolti nelle Università italiane.

La revisione del testo è rispettosa dell'avanzamento tumultuoso delle conoscenze in ambito microbiologico; inoltre è stata guidata, in questo caso più che nelle stesure precedenti, dalla consapevolezza che la Microbiologia medica è sempre più una disciplina dinamica, in continua evoluzione, anche metodologica e tecnologica, che mantiene e rafforza il rapporto diretto con le discipline cliniche. Nella revisione si è cercato di accentuare, oltre l'azione divulgativa, l'azione formativa della trattazione al fine di ovviare, per quanto possibile, al limite odierno dei testi universitari, che raramente riescono a rappresentare il punto di riferimento assoluto per una disciplina.

Anche la terza edizione è caratterizzata da un elevato numero di autori e collaboratori, rappresentanti di una vasta e variegata componente della microbiologia italiana. Tale caratteristica, oltre ad essere garanzia di multidisciplinarietà e di aggiornamento puntuale (di fatto, ove possibile, abbiamo cercato di assegnare i capitoli ai diversi autori sulla base della loro esperienza specifica), rappresenta motivo di grande soddisfazione per noi curatori perché crediamo di aver suscitato l'interesse di diverse componenti della microbiologia italiana intorno a un progetto comune. Ai vari Autori e Collaboratori (a cui va il nostro sentito riconoscimento) deve essere interamente attribuito quanto di nuovo e migliorato il lettore troverà in questa terza edizione.

È doveroso anche un ringraziamento ai Docenti che nelle varie università italiane hanno manifestato negli anni passati un lusinghiero interesse per il nostro testo e agli Studenti che, con il loro apprezzamento, ci hanno spinto a impegnarci ancora nel lavoro di revisione.

Un ringraziamento e un riconoscimento particolare, infine, all'Editore per averci esortato con determinazione a curare la nuova edizione e per l'impegno editoriale rilevante che ha consentito in breve tempo un sostanziale rinnovamento strutturale del volume con una veste tipografica sempre più funzionale e piacevole.

Settembre 2017

*Guido Antonelli
Massimo Clementi
Gianni Pozzi
Gian Maria Rossolini*

Introduzione alla Microbiologia medica

La finalità di questo testo è essenzialmente di aiuto alla didattica e vuole proporsi come supporto alla preparazione microbiologica dello studente dei corsi della Facoltà di Medicina e Chirurgia.

La Microbiologia è la scienza che studia i microrganismi (dal greco *micros*, piccolo, e *bios*, vita). Per ragioni pratiche, dalla Microbiologia sono gemmate, nel tempo, branche specialistiche che sono sempre più cresciute fino a diventare discipline indipendenti: è possibile oggi distinguere una Microbiologia agro-alimentare, una Microbiologia veterinaria, una Microbiologia industriale, una Microbiologia ambientale e, ovviamente, una Microbiologia medica, la vasta disciplina che rappresenta l'oggetto di questo testo. La Microbiologia medica affronta i temi dei microrganismi patogeni per l'uomo e si articola, a sua volta e in relazione ai tipi di microrganismi studiati, in *Batteriologia medica* (la disciplina che studia i microrganismi procariotici patogeni per l'uomo), *Virologia medica* (i virus), *Micologia medica* (i miceti patogeni) e *Parassitologia medica* (i parassiti).

La Microbiologia medica è oggi una scienza matura ed evoluta in tutti i suoi aspetti. Come per molte altre discipline che si sono sviluppate negli ultimi decenni, il percorso attraverso cui questo evento di crescita si è realizzato è stato forse difforme per i diversi settori che la costituiscono. Malgrado ciò, soprattutto nell'era della medicina molecolare, si è reso viepiù evidente (in particolare nell'approccio medico), il comune filo conduttore sotteso a tutta la Microbiologia medica. A questo particolare aspetto, che è un elemento caratterizzante della moderna Microbiologia medica, il presente testo ha voluto dare ampia visibilità, cercando di integrare i contributi di scuole e realtà diverse della Microbiologia medica italiana.

Il testo è rivolto alla preparazione microbiologica dello studente di Medicina e ha mantenuto un'organizzazione generale di tipo tradizionale. Tuttavia, in linea con le più recenti esigenze didattiche e formative, si è scelto di conferire un taglio più diretto allo studio dei diversi patogeni, anche finalizzando maggiormente le parti definite di *Microbiologia generale*, rispetto ai testi per studenti di un recente passato. Gli aspetti generali sono stati infatti ridotti all'essenziale, cercando di offrire una visione conoscitiva e applicativa con l'obiettivo di fornire uno strumento concreto alla didattica microbiologica, piuttosto che di produrre l'ennesimo dotto trattato.

È indubbio che la Microbiologia medica si sia particolarmente arricchita quando ha utilizzato gli strumenti della Biologia molecolare, della Genetica e dell'Ingegneria genetica per crescere verso nuovi obiettivi. A questi aspetti, che hanno portato a una revisione importante della disciplina (revisione tuttora in corso), viene dedicato in tutto il testo uno spazio molto ampio che può aiutare nella comprensione dell'importanza dello studio dei determinanti di patogenicità, delle interazioni microrganismo-ospite e della risposta immune per definire le strategie diagnostiche, terapeutiche e preventive che competono al medico o al professionista in ambito sanitario.

Guido Antonelli
Massimo Clementi
Gianni Pozzi
Gian Maria Rossolini

A

BATTERIOLOGIA MEDICA

Capitolo

6

Patogenicità e virulenza

Nonostante decenni di progressi rilevanti nel trattamento e nella prevenzione, le malattie infettive rimangono una delle principali cause di mortalità, di morbilità e di peggioramento della qualità di vita in tutto il mondo.

Con l'avvento degli agenti antimicrobici, si è creduto che le malattie infettive sarebbero state relegate nella storia della medicina, ma, nonostante l'introduzione dei farmaci antimicrobici, i microrganismi hanno sviluppato la capacità di eludere le più sofisticate strategie dell'ospite per garantirsi la sopravvivenza.

Affinché un qualsiasi processo infettivo si realizzi, è necessaria l'**interazione tra ospite e parassita**, per questo la geografia, l'ambiente e il comportamento umano influenzano la probabilità di contrarre l'infezione; così come molti **fattori specifici dell'ospite**: l'età, le precedenti vaccinazioni e malattie, il livello di nutrizione, lo stato di gravidanza, malattie concomitanti, e forse condizioni emotive, sono tutti fattori che hanno un qualche impatto sul rischio d'infezione, dopo esposizione a un potenziale agente patogeno. L'importanza dei meccanismi di difesa dell'ospite, sia specifici che aspecifici, si dimostra in tutta la sua rilevanza quando questi sono assenti, come si verifica nei soggetti immunocompromessi.

L'infezione implica complicate interazioni tra il parassita e l'ospite, che in maniera inevitabile interessano entrambi. Nella maggior parte dei casi, sono richiesti diversi passaggi nel processo patogenetico che conduce allo sviluppo di un processo infettivo, dal momento che l'ospite immunocompetente ha una complessa serie di barriere atte a prevenire l'infezione, e il parassita, efficacemente patogeno, deve utilizzare specifiche strategie per ognuna di queste.

Dopo la nascita, la pelle, l'intestino e le mucose che rivestono la bocca, la gola e i sistemi escretori e riproduttivi vengono rapidamente colonizzati da un gran numero di microrganismi non patogeni. Questi microbi commensali, indicati anche come **microbiota** o **flora normale**, si stabiliscono e vivono in favorevoli nicchie ecologiche all'interno dell'ospite e in condizioni normali non causano malattia ma anzi svolgono un ruolo benefico, spesso essenziale, per il mantenimento della salute generale dell'individuo (tab. 6.1). Essi includono lattobacilli, *Bacteroides*, streptococchi viridanti, numerosi enterobatteri e *Candida* spp. L'uomo ha sviluppato misure di difesa efficaci per sopprimere e distruggere la maggior parte dei **microrganismi invasori**. Durante l'evoluzione, infatti, si sono sviluppati molti meccanismi di natura meccanica, chimica, cellulare e immunologica in grado di prevenire un'invasione. Un modesto indebolimento di uno, o più di questi sistemi di difesa, sposta il precario equilibrio esistente con i microrganismi di virulenza intermedia, mentre un indebolimento più grave permette anche ai non patogeni di invadere e dare malattia. I patogeni altamente virulenti, invece, causano generalmente malattia ogni volta colonizzano l'ospite.

Le infezioni che si verificano in seguito a una diminuzione delle difese dell'ospite sono dette **opportunistiche** e stanno diventando sempre più comuni in conseguenza dell'aumento dell'immunosoppressione da farmaci, da terapia radiante e della diffusione di malattie immunospressive.

- Interazione ospite-patogeno
- Fattori di virulenza
- Adesione e invasione
- Esotossine
- Endotossine
- Quorum sensing e biofilm

Tabella 6.1 Generi batterici rappresentativi presenti nella flora normale dell'uomo.

Regioni anatomiche	Microrganismi
Pelle	<i>Staphylococcus</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Acinetobacter</i> , <i>Propionibacterium</i> , <i>Micrococcus</i>
Cavità orale	<i>Streptococcus</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Fusobacterium</i> , <i>Veillonella</i> , <i>Neisseria</i> , <i>Corynebacterium</i>
Tratto respiratorio	<i>Staphylococcus</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Neisseria</i>
Tratto gastrointestinale	<i>Streptococcus</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Bacteroides</i> , <i>Bifidobacterium</i> , <i>Eubacterium</i> , <i>Peptococcus</i> , <i>Peptostreptococcus</i> , <i>Ruminococcus</i> , <i>Clostridium</i> , <i>Escherichia</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Proteus</i> , <i>Enterococcus</i>
Tratto genitourinario	<i>Escherichia</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Proteus</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Prevotella</i> , <i>Clostridium</i> , <i>Peptostreptococcus</i>

I progressi medici riguardanti le malattie infettive sono stati ostacolati dal cambiamento della popolazione, attualmente rappresentata da una percentuale sempre più significativa di **soggetti immunocompromessi**. Agenti infettivi che convivono pacificamente con l'ospite immunocompetente possono causare la morte di individui il cui sistema immunitario non sia integro. L'AIDS (sindrome da immunodeficienza acquisita), sostenuta dal virus dell'immunodeficienza umana (HIV), ha messo in evidenza microrganismi una volta considerati "minor" come *Pneumocystis jirovecii*, *Cryptosporidium parvum* e *Mycobacterium avium*.

Paradossalmente lo stesso impiego degli antibiotici può contribuire a ridurre le resistenze dell'ospite, alterando la normale microflora che è presente, in competizione, sulla cute e sulle mucose.

6.1 - Interazione ospite-parassita dal punto di vista ecologico

Dal punto di vista evoluzionistico il rapporto ospite-parassita viene espresso in termini di **nicchie ecologiche** e di **adattamenti a lungo termine**. Se un microrganismo non ha un serbatoio nell'ambiente naturale e ha un **limitato spettro d'ospite** (**host range**), un'alta virulenza costituirà uno svantaggio: essa infatti potrebbe portare a una selezione contraria perché, eliminando rapidamente l'ospite, impedirebbe l'ulteriore diffusione del microrganismo. Di conseguenza si osserva come microrganismi quali gli pneumococchi, che hanno uno spettro d'ospite estremamente ristretto, mostrino un buon equilibrio fra sviluppo e virulenza: colonizzano, infatti, il rinofaringe degli individui normali con una densità sufficiente a consentire loro la trasmissione ad altri individui, riuscendo in questo modo a persistere; solo quando raggiungono, in numero sufficiente, le vie respiratorie inferiori causano malattia.

A volte gli stessi adattamenti che facilitano la sopravvivenza naturale dei microrganismi permettono loro di causare malattia nell'uomo. Un esempio è la capacità del bacillo della malattia dei legionari, *Legionella pneumophila*, di crescere nei macrofagi umani. In natura questi batteri si sviluppano in associazione con alghe nelle acque correnti ed entrambi vengono ingeriti dalle comuni amebe del suolo; tuttavia *Legionella* a differenza delle alghe, ha evoluto la capacità di eludere l'armamentario digestivo e microbicida dell'ameba, in modo da svilupparsi all'interno delle amebe e poi ucciderle. Quando i bacilli passano nell'aerosol e vengono inalati dall'uomo sono fagocitati dai macrofagi alveolari e si sviluppano in queste cellule proprio come fanno nelle amebe del suolo.

Altri microrganismi possono adattarsi a molteplici ambienti e ospiti: l'ampia famiglia delle *Enterobacteriaceae* rappresenta un gruppo di specie strettamente correlate, ampiamente distribuite in habitat terrestri come pure nel tratto gastrointestinale dell'uomo e di altri animali.

I batteri altamente letali per l'uomo hanno generalmente **serbatoi** stabili in altri animali, nei portatori o nel suolo: il microrganismo della peste, ad esempio, colonizza i ratti senza ucciderli, mentre le spore del carbonchio rimangono vitali per molti anni nel suolo.

Gli organismi animali costituiscono degli ambienti favorevoli per la crescita di molti microrganismi. Essi contengono numerose sostanze nutritive e fattori di crescita e inoltre forniscono condizioni di pH, pressione osmotica e temperatura relativamente costanti. L'organismo animale non è comunque un ambiente uniforme: ogni distretto differisce, chimicamente e fisicamente, dagli altri. La pelle, l'apparato respiratorio, il tratto gastrointestinale, e così via, sono ambienti caratterizzati da condizioni chimico-fisiche molto diverse, nei quali possono crescere selettivamente microrganismi differenti. Ad esempio, l'ambiente relativamente secco della pelle favorisce la crescita di batteri gram-positivi come *Staphylococcus aureus*, l'ambiente ricco di ossigeno dei polmoni è particolarmente favorevole per la crescita di *Mycobacterium tuberculosis*, mentre l'ambiente anaerobico dell'intestino crasso permette la crescita dei batteri anaerobi obbligati appartenenti al genere *Clostridium*.

Le infezioni iniziano frequentemente a livello dei **rivestimenti epiteliali delle mucose**, presenti in diverse parti dell'organismo (fig. 6.1), quali la bocca, la faringe, l'esofago, gli apparati urogenitale, respiratorio e gastrointestinale. Le mucose sono spesso rivestite da uno strato protettivo di muco, costituito essenzialmente da glicoproteine solubili, che serve a proteggere le cellule epiteliali. Quando entrano in contatto con i tessuti dell'ospite, a livello delle mucose, i batteri possono associarsi a queste in modo più o meno saldo. Se non si associano strettamente, molto spesso vengono eliminati tramite processi fisici. I batteri possono anche aderire alla superficie delle cellule epiteliali grazie al riconoscimento specifico, recettore-mediato, tra patogeno e cellula ospite; in questo caso si verifica spesso una vera e propria invasione del tessuto. Quando ciò accade, la barriera costituita dalle mucose viene intaccata, permettendo al microrganismo di penetrare nei tessuti più profondi.

I microrganismi si ritrovano, quasi sempre, in quelle regioni del corpo più esposte all'ambiente esterno, come la pelle, la cavità orale e i tratti respiratorio, intestinale e urogenitale. Sulla superficie del corpo più esposta, la pelle (2 m^2), sono presenti numerosi microrganismi commensali. Tuttavia, alle superfici delle mucose è associato un numero maggiore di varietà micobiche; ciò è in parte dovuto all'ambiente umido e protetto delle mucose e all'area totale, molto estesa, che esse ricoprono (400 m^2). I microrganismi non sono normalmente presenti nei tessuti più interni, come il sangue, il sistema linfatico e il sistema nervoso centrale (SNC), e anzi, la loro presenza in questi distretti, tipicamente sterili, indica uno stato di malattia infettiva piuttosto grave.

Infine, un fattore significativo nelle interazioni ecologiche tra batteri e uomo è dato dalla **diversa sensibilità alle malattie infettive** degli individui; la sopravvivenza della

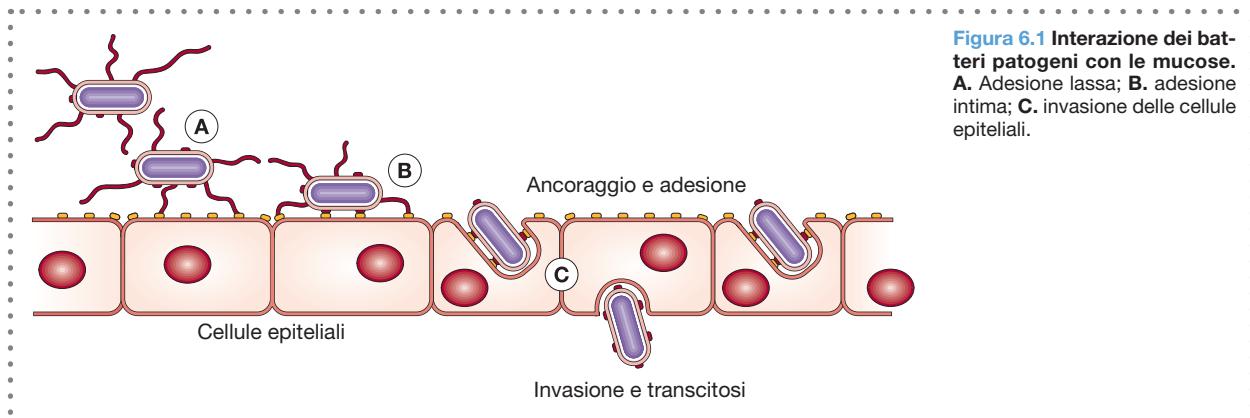


Tabella 6.2 Interazioni tra microrganismi e uomo: definizioni.

Termine	Significato
Batteriemia	Presenza di microrganismi nel circolo ematico
Colonizzazione	Moltiplicazione di un agente patogeno dopo la penetrazione nei tessuti dell'ospite
Microbiota	Flora di microrganismi normalmente presenti nei tessuti corporei sani
Simbiosi	Interazione biologica intima, di lungo termine, fra due o più organismi
Infezione	Crescita di microrganismi patogeni nei tessuti dell'ospite
Infiammazione	Risposta dell'ospite a lesioni o infezioni, caratterizzata da arrossamento, gonfiore e rosore
Malattia	Lesione che compromette le funzioni fisiologiche dell'ospite
Ospite	Organismo che ospita un parassita
Parassita	Microrganismo dannoso per l'ospite
Patogenicità	Capacità di un parassita di infliggere danni all'ospite
Tossicità	Patogenicità associata all'azione di tossine prodotte da un patogeno
Tossoide	Esotossina modificata chimicamente in modo tale da mantenere l'antigenicità pur perdendo il potere tossico
Virulenza	Grado di patogenicità associata a un agente patogeno

specie può dipendere infatti dalla cosiddetta “lotteria darwiniana” che, attraverso una serie di meccanismi diversi, rende alcuni individui più resistenti ad alcuni microrganismi, e altri verso microrganismi differenti.

La conoscenza delle interazioni ospite-parassita resta dunque un argomento di cruciale importanza, in continuo aggiornamento (tab. 6.2).

6.2 - Infezioni latenti e stato di portatore

La maggior parte dei microrganismi patogeni è completamente eradicata con la scomparsa della sintomatologia clinica, ma alcuni possono persistere nell'ospite dopo la guarigione, in maniera simbiotica (tab. 6.2). Le infezioni che possono in seguito riattivarsi (come può verificarsi, ad esempio, nella tubercolosi o nella sifilide) sono dette latenti (silenti); mentre gli ospiti con infezioni asintomatiche non recidivanti (come ad esempio quelle causate dal bacillo tifoideo o da quello difterico) sono definiti portatori sani del microrganismo.

Nelle **infezioni latenti** il microrganismo permane nel corpo dell'individuo senza che insorga una patologia evidente, ma esso può determinare una malattia mesi o anni più tardi. In alcuni casi è possibile individuare la causa che scatena il riemergere del microrganismo: ad esempio, i farmaci immunosoppressori o citotossici possono riattivare la tubercolosi in un individuo i cui processi immunologici abbiano mantenuto il batterio allo stato latente. Tuttavia, in altri casi non esiste una chiara spiegazione della riattivazione.

Il **portatore** di un microrganismo patogeno è invece un ospite che, pur albergando il microrganismo è in grado di diffonderlo, e risulta immune alla malattia; questo stato talvolta s'instaura senza che si sia verificata la malattia in precedenza. Lo stato di portatore è spesso instabile e termina dopo alcune settimane; tuttavia, a seguito di alcune malattie, come la febbre tifoidea e la gonorrea, gli individui possono rimanere portatori indefinitamente, fornendo così un continuo serbatoio per il microrganismo infettante. Può risultare impossibile eradicare solo con la terapia antibiotica i batteri che formano

un'associazione a lungo termine con un portatore: i portatori di *Salmonella typhi*, infatti, spesso ospitano questo microrganismo nella colecisti, e per gli individui con calcoli biliari che diventano portatori di *S. typhi* spesso la colecistectomia rappresenta l'unico modo per eliminare lo stato di portatore.

Escherichia coli è presente normalmente in gran numero nel colon: a questo livello i microrganismi non sono patogeni e possono anche essere di beneficio all'ospite che presenta normali condizioni di salute, contribuendo alla sintesi di vitamina K e inducendo un'immunità naturale nei confronti di altri batteri gram-negativi. Soltanto quando *E. coli* oltrepassa la barriera mucosale e invada altre sedi, esso determina malattia: la penetrazione di *E. coli* nel peritoneo attraverso una breccia meccanica della parete intestinale, il suo ingresso nella vescica urinaria, o l'invasione del torrente ematico, sono tutti eventi associati a malattia.

Alcuni patogeni virulenti come lo streptococco di gruppo A e *Neisseria meningitidis* sono in grado di colonizzare un numero molto elevato di soggetti per lunghi periodi di tempo senza alcun effetto patogeno. In questi casi gli individui colonizzati possono avere già un'immunità specifica nei confronti di questi microrganismi, oppure l'invasione viene impedita dalle difese non specifiche dell'ospite e, nel frattempo, si sviluppa l'immunità specifica. Alcuni microrganismi, infine, possono rimanere nei tessuti dell'ospite per tutta la vita, determinando danni minimi fino a quando il sistema immunitario dell'ospite è integro, ma provocando gravi malattie sintomatiche se quest'ultimo è compromesso.

6.3 - Virulenza

L'esito dell'interazione ospite-parassita dipende dalla **patogenicità** di quest'ultimo, ovvero dalla capacità del microrganismo di infliggere un danno all'ospite e dare malattia, e dalla resistenza o suscettibilità dell'ospite al parassita stesso. La misura quantitativa della patogenicità è indicata con il termine **virulenza**, espressa come il **numero di cellule che suscitano una risposta patologica nell'ospite in un dato periodo di tempo**. Né la virulenza del patogeno, né la relativa resistenza dell'ospite sono fattori costanti: l'interazione ospite-parassita è una relazione dinamica tra i due organismi, poiché ognuno modifica l'attività e le funzioni dell'altro tanto che la virulenza del patogeno e la resistenza dell'ospite variano continuamente.

La virulenza racchiude due tra le caratteristiche del microrganismo patogeno: l'**infettività**, cioè la capacità di colonizzare e invadere l'ospite, e l'**entità della malattia**; essa può variare sia tra le varie specie microbiche, che tra ceppi differenti di una stessa specie. Le componenti di un microrganismo che determinano la capacità di causare malattia, senza influenzare di per sé la vitalità, sono dette **fattori o determinanti di virulenza**. La virulenza è determinata essenzialmente dalla **tossicità** e dall'**invasività** del microrganismo (fig. 6.2).

Con il termine **tossicità** si intende la capacità di un microrganismo di svolgere il suo ruolo patogenetico attraverso la produzione di tossine che alterano o inibiscono la fisiologia e le funzioni della cellula o la uccidono: le tossine secrete dal batterio della difterite o da ceppi *E. coli* enteropatogeni (EPEC) sono, ad esempio, importanti fattori di virulenza, ma non sono necessarie per lo sviluppo di questi microrganismi o per la colonizzazione dei loro ospiti.

L'**invasività** è la capacità di un microrganismo di proliferare nei tessuti fino a raggiungere numeri così elevati da inibire le funzioni dell'ospite: un microrganismo, anche se non produce tossine, può essere in grado di determinare una malattia proprio grazie alle sue proprietà invasive.

L'invasività è fortemente influenzata dalle proprietà superficiali dei batteri che possono accentuare la capacità di colonizzare e quindi aumentare la virulenza in due modi diversi: promuovendo la loro adesione a cellule specifiche e/o diminuendo la



capacità di attrazione sui fagociti. Ad esempio, il più importante fattore di virulenza di *Streptococcus pneumoniae* è la capsula polisaccaridica che impedisce la fagocitosi batterica, annullando così il principale meccanismo di difesa utilizzato dall'ospite per prevenire l'invasione. I ceppi capsulati di *S. pneumoniae* sono capaci di causare danni estesi nell'ospite come risultato del loro elevato grado d'invasività; essi crescono nel tessuto polmonare in numero elevato, dove inducono le risposte dell'ospite che portano alla polmonite lobare. I ceppi non capsulati, invece, vengono rapidamente e facilmente catturati e distrutti dalle cellule fagocitiche.

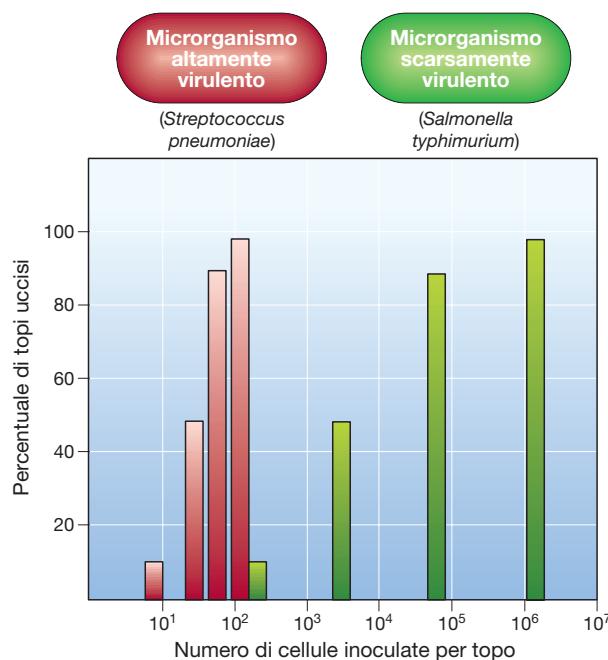
La maggior parte dei microrganismi esplica la propria patogenicità mediante una combinazione dei meccanismi di tossicità e invasività.

La virulenza è una proprietà poligenica dei microrganismi; in teoria può essere influenzata da un qualunque aspetto della loro fisiologia: la produzione di tossine e le proprietà superficiali, il tasso di crescita, le esigenze nutrizionali, l'efficienza di assorbimento di micronutrienti (come il ferro), la sensibilità alla temperatura e la resistenza ai danni da sostanze ossidanti o all'attacco da parte di enzimi. Inoltre, come avviene negli organismi superiori, l'adattamento di un microrganismo alla sua nicchia ecologica dipende dall'evoluzione di un genoma nel quale si verifichino interazioni equilibrate (co-adattamento) fra i suoi geni, molti, e i loro prodotti.

La virulenza di un microrganismo, come la tossicità di una tossina, è generalmente espressa come la dose capace di infettare o di uccidere il 50% degli animali inoculati, e i rispettivi indicatori assumono la denominazione di **dose infettiva₅₀** (ID_{50} , *Infectious Dose*), o **dose letale₅₀** (LD_{50} , *Lethal Dose*).

La virulenza è un processo che può essere studiato mediante l'utilizzo di modelli sperimentali murini d'infezione con ceppi patogeni. In [figura 6.3](#) è indicato come anche poche cellule di *S. pneumoniae* sono sufficienti a provocare un'infezione letale e a uccidere tutti i membri della popolazione saggia. Al contrario, la LD_{50} di *Salmonella typhimurium*, responsabile di gastroenteriti nel topo, anche se meno virulento, è molto più elevata di quella di *S. pneumoniae* e il numero di batteri richiesti ([fig. 6.3](#)) per uccidere il 100% della popolazione è 100 volte maggiore della LD_{50} .

[Figura 6.3](#) Confronto del livello di virulenza di *Streptococcus pneumoniae* e di *Salmonella typhimurium* in un modello murino d'infezione.



È importante tenere presente che l'efficienza d'infezione viene profondamente influenzata anche da numerosi **fattori dell'ospite**, tra cui l'età, il sesso, il patrimonio genetico, lo stato nutrizionale, la densità di popolazione e una precedente esposizione al microrganismo.

Quando i patogeni vengono coltivati in laboratorio, la loro virulenza può diminuire significativamente fino a scomparire. Questi **microrganismi** sono detti **attenuati**. L'attenuazione è un fenomeno associato, probabilmente, al fatto che i mutanti non virulenti crescono più rapidamente e sono selettivamente favoriti dai successivi passaggi in terreno di coltura fresco. L'attenuazione si osserva più facilmente quando le condizioni di coltura non sono ottimali per quella determinata specie. Se una coltura attenuata viene re-inoculata in un animale, in alcuni casi si possono isolare nuovamente microrganismi virulenti, mentre in altri la perdita della virulenza è permanente. I ceppi attenuati possono essere utilizzati per la produzione di vaccini.

6.4 - Patogenicità e virulenza nell'era post-genomica

Negli ultimi anni sono stati sequenziati i genomi della maggior parte degli agenti patogeni e dei più importanti agenti commensali. L'analisi di queste sequenze genomiche ha rivelato diverse forze coinvolte nell'evoluzione dei patogeni e ha portato alla luce aspetti inattesi della loro biologia. Particolarmente sorprendente è la scoperta che la **plasticità/instabilità** del genoma e il trasferimento genico orizzontale hanno un ruolo chiave nell'evoluzione degli agenti patogeni; ciò ha portato a una rivalutazione delle definizioni di "patogeno" e di "fattore di virulenza".

Tra le forze che hanno plasmato l'evoluzione dei batteri patogeni particolare importanza rivestono: **l'acquisizione di geni** (*gene gain*), **la perdita di geni** (*gene loss*) e **i cambiamenti nella sequenza genica** (*gene change*). Nel genoma di alcuni batteri patogeni (ad es. *Yersinia pestis*) sono stati evidenziati tutti e tre i fenomeni. Differenze nell'entità e nella tempistica di questi cambiamenti, in diverse linee di batteri patogeni, hanno determinato varie forme di dinamicità genomica. Fenomeni di ricombinazione genica possono verificarsi tra sequenze strettamente correlate in ceppi correlati, evento comune di patogeni mucosali naturalmente competenti (ad es. *N. meningitidis*, *Haemophilus influenzae* e *S. pneumoniae*). Il trasferimento genico orizzontale, meccanismo che comporta l'acquisizione di nuove sequenze di DNA, predomina in alcuni patogeni (ad es. molti enterobatteri e alcuni stafilococchi e streptococchi).

Il sequenziamento dell'intero genoma di molte specie batteriche differenti ha inoltre confermato che il fenomeno della **variazione di fase** è causa di enorme variazione genotipica e fenotipica. Si tratta di diversi meccanismi mutazionali sfruttati dai batteri per lo "switch genico" che porta all'espressione o meno di geni codificanti per proteine e diversi componenti strutturali batterici (*switch on/off*). Ad esempio, in *Campylobacter jejuni*, agente eziologico della campilobatteriosi, una delle malattie batteriche gastrointestinali più diffuse al mondo, la presenza di numerose sequenze ripetute omopolimeriche, in prossimità delle regioni codificanti di diversi geni, può determinare fenomeni di scivolamento (*slippage*) durante la replicazione del DNA, fornendo un ampio repertorio di strutture esposte sulla superficie della cellula batterica. *Bacteroides fragilis*, un batterio gram-negativo anaerobio obbligato che normalmente colonizza il colon dell'essere umano, utilizza invece meccanismi di inversione del DNA per modulare oltre 20 loci genici differenti, in cui mappano geni che codificano per proteine della superficie batterica, polisaccaridi e componenti dei sistemi di regolazione. Secondo calcoli della matematica combinatoria, un batterio con soli 20 loci fase-variabili può esistere in oltre 2^{20} differenti forme, ovvero oltre 1 milione di forme.

I dati scientifici assunti nell'era post-genomica dimostrano il limite delle precedenti conoscenze circa l'ecologia e l'evoluzione della patogenicità batterica, e hanno aperto accese discussioni e imposto una ridefinizione della terminologia microbiologica

classica. All'interno di specie batteriche geneticamente variabili, è ormai chiaro che un singolo ceppo simboleggia raramente un'intera specie, soprattutto perché la genomica ha fornito una prova convincente che i ceppi comunemente utilizzati in laboratorio (ad es. *E. coli* K-12, *Salmonella enterica* sierotipo typhimurium LT2, *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 e *Staphylococcus aureus* COL) hanno subito profondi cambiamenti genotipici e fenotipici durante la loro discendenza dall'isolato ancestrale.

Analogamente, i dati sulle sequenze genomiche batteriche contrastano con il semplicistico punto di vista secondo cui un agente patogeno batterico può essere definito unicamente attraverso l'individuazione dei fattori di virulenza e che gli agenti patogeni evolvono sempre dai non patogeni attraverso l'acquisizione di geni di virulenza presenti su plasmidi, batterofagi e isole di patogenicità. La genomica, quindi, ha contribuito a offuscare la distinzione tra agenti patogeni e non patogeni e tra fattori di virulenza e di colonizzazione. Essa ha determinato una rivoluzione copernicana nel modo di osservare le interazioni ospite-patogeno, il passaggio da una prospettiva antropocentrica verso una prospettiva più ampia che pone le interazioni tra batteri eucariofilici ed eucarioti in un contesto ecologico ed evolutivo più ampio (la così detta **prospettiva eco-evo**).

Versione molecolare dei postulati di Koch

Alla luce delle conoscenze fornite dal sequenziamento del genoma di molte specie batteriche differenti i famosi postulati di Koch, utilizzati per determinare il legame che esiste tra una malattia e il microrganismo sospettato di esserne l'agente eziologico, rappresentano una visione semplicistica dell'interazione ospite-parassita. Infatti, oggi risulta chiaro che la maggior parte dei patogeni causa forme morbose che possono variare dall'infezione subclinica alla malattia grave fatale, a seconda di fattori dell'ospite (ad es. la funzione del sistema immunitario) e di fattori del patogeno (ad es. variazioni ceppo-specifiche nella colonizzazione e fattori di virulenza). Inoltre, alcuni agenti patogeni non possono essere coltivati in laboratorio, mentre altri causano malattia solo in associazione con altri microrganismi.

Una versione molecolare dei postulati di Koch è stata messa a punto da Stanley Falkow (*Professor Emeritus, Microbiology and Immunology, Stanford University*) nel tentativo di dare una definizione più completa del termine "fattore di virulenza". Questa versione molecolare consta di tre criteri. In primo luogo, il potenziale fattore di virulenza dovrebbe essere presente in tutti i ceppi patogeni di una data specie e assente nei ceppi non patogeni. In secondo luogo, la specifica inattivazione del gene in questione dovrebbe attenuare la virulenza in un adeguato modello animale. Da ultimo, la successiva reintroduzione del gene funzionale dovrebbe ripristinare la virulenza nel modello animale.

Tuttavia, allo stesso modo dei postulati di Koch originali, si presentano una serie di difficoltà se i **postulati molecolari di Koch** vengono applicati acriticamente. Questi si basano sulla fondamentale distinzione tra agenti patogeni e non patogeni, ma spesso i batteri hanno ruoli diversi in circostanze diverse. Ad esempio, i ceppi uropatogeni di *E. coli* (UPEC) fungono da microrganismi commensali nell'intestino umano ma da patogeni nella vescica umana, mentre i ceppi enteroemorragici di *E. coli* (EHEC) fungono da microrganismi commensali nell'intestino bovino ma da patogeni in quello dell'uomo. Allo stesso modo, *Yersinia pestis* è un patogeno di diversi animali ma i fattori di virulenza coinvolti differiscono a seconda dell'ospite.

È stato dimostrato come vi sia un evidente conflitto tra il primo postulato di Falkow (fattori di virulenza definiti utilizzando la genomica comparativa) e i restanti postulati (fattori di virulenza definiti utilizzando tecniche genetiche e modelli d'infezione). Infatti, se si applica il primo postulato, vale a dire che tutti i fattori che sono comuni a patogeni e non patogeni non possono essere fattori di virulenza, allora alcuni patogeni non hanno fattori di virulenza. Se invece si ignora il primo postulato, allora molti **fattori di virulenza** sono presenti anche in stipiti non patogeni.

Tabella 6.3 Principali fattori di adesione dei microrganismi patogeni.

Fattore di adesione	Esempi di attività
Glicocalice/capsula/strato mucoso	<i>Escherichia coli</i> EPEC: il glicocalice promuove l'adesione all'orletto striato dei villi intestinali <i>Streptococcus mutans</i> : il glicocalice di destrano promuove il legame alla superficie dei denti
Proteine di adesione: M e Opa	<i>Streptococcus pyogenes</i> : la proteina M si lega a recettori presenti sulla mucosa respiratoria <i>Neisseria meningitidis</i> e <i>Neisseria gonorrhoeae</i> : le proteine Opa si legano a recettori presenti rispettivamente sulle cellule dell'epitelio orofaringeo e genitourinario
Acido lipoteicoico	<i>Streptococcus pyogenes</i> : in associazione con la proteina M forma fibrille che facilitano il legame al recettore della mucosa respiratoria
Fimbrie/pili	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> : i pili di tipo IV facilitano il legame all'epitelio urogenitale <i>Salmonella</i> spp.: le fimbrie di tipo I facilitano il legame all'epitelio dell'intestino tenue <i>Escherichia coli</i> patogeni: i fattori antigenici di colonizzazione (CFA), costituenti delle fimbrie, facilitano il legame all'epitelio dell'intestino tenue

6.5 - Fasi del processo patogenetico

L'utilizzo dei mutanti batterici applicato ai diversi metodi di biologia cellulare e molecolare ha rivoluzionato lo studio della patogenesi batterica.

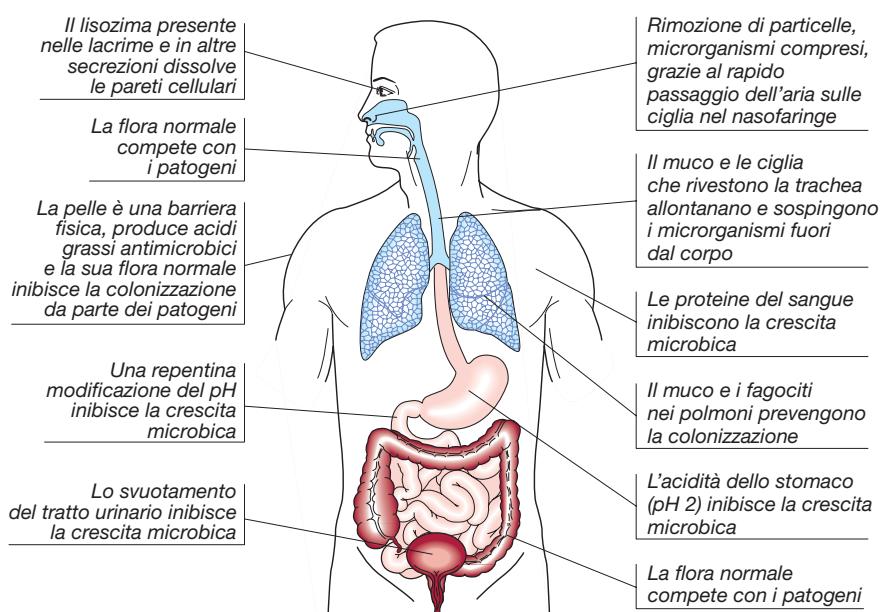
La **patogenesi**, ovvero la **capacità** di un microrganismo **di indurre malattia**, ha inizio con l'adesione del microrganismo stesso alle cellule dell'ospite (tab. 6.3), seguita dalla colonizzazione delle superfici, che può portare a un danno cellulare localizzato, dall'invasione dei tessuti e dalla proliferazione, con conseguente distruzione della struttura tessutale dell'organismo ospite, dalla produzione di esotossine, che possono agire localmente o in punti distanti, e infine dall'induzione di reazioni infiammatorie, allergiche e fibrotiche dell'ospite, che possono causare alterazioni temporanee o permanenti dei tessuti.

Adesione e colonizzazione delle superfici

Prima di determinare un danno, un microrganismo patogeno deve poter raggiungere i tessuti dell'ospite e moltiplicarsi: il più delle volte il primo contatto tra l'ospite e il parassita avviene a livello della superficie cutanea o mucosa. Allo scopo di impedire lo sviluppo del processo infettivo durante tale contatto, l'ospite ha sviluppato **meccanismi di difesa** altamente efficaci che operano a livello dell'interfaccia tra il corpo e il mondo esterno. Molti di questi meccanismi iniziali di difesa non sono diretti nei confronti di una particolare specie di microrganismo. Le **barriere meccaniche**, inclusi lo spesso strato corneo della cute e le secrezioni ghiandolari, tendono a prevenire l'infezione ad opera di qualsiasi patogeno potenziale. Le **barriere chimiche**, come l'acidità gastrica e le vescicole, rappresentano un ambiente ostile per la maggior parte dei microrganismi. La **normale microflora**, composta di organismi non patogeni che colonizzano le superfici mucose, rende più difficile la colonizzazione ad opera di patogeni, a causa della competizione per le risorse ambientali e la produzione di sostanze ad attività antibatterica (**batteriocine**) (fig. 6.4). Meccanismi **comportamentali** e **neurologici**, come ad esempio il vomito e la tosse, aiutano a prevenire le infezioni delle vie respiratorie inferiori.

Si è imparato a riconoscere l'importanza di questi meccanismi osservando le malattie che derivano dalla loro compromissione. Alterazioni delle secrezioni bronchiali che si osservano nella fibrosi cistica (FC) conducono spesso a infezioni polmonari croniche da *P. aeruginosa*. Una lesione cutanea, conseguente alla puntura di un insetto o al morso

Figura 6.4 Barriere fisiche, chimiche e anatomiche dell'ospite all'infezione da parte di patogeni.



di un animale, a ustione o a lesioni da trattamento, a traumi o a incisioni chirurgiche, consente l'ingresso di patogeni o di agenti opportunistici. L'eradicazione della normale flora intestinale conseguente a terapia antibiotica può rendere patogeni microrganismi come *Clostridium difficile*.

L'ospite ha sviluppato anche un sistema di difesa organismo-specifico a livello delle superfici mucose. Nell'epitelio dell'intestino, della mucosa nasale e a livello di altre sedi che confinano con l'ambiente esterno, risiedono macrofagi specializzati e linfociti che rivestono un ruolo importante nel sistema di difesa. Questo tessuto linfoide associato alla mucosa sembra svolgere un ruolo decisivo nell'intrappolare gli antigeni consentendo che questi vengano in contatto con i linfociti a livello della mucosa. In alcune aree questi tessuti sono riconoscibili anatomicamente: tra queste vi sono le tonsille orofaringee e, nel tratto gastrointestinale, le placche di Peyer e l'appendice. L'elaborazione di immunoglobuline di superficie rappresenta il fulcro di questo sistema di difesa, in particolare si tratta di IgA secretorie che prevengono l'adesione e la penetrazione dei microrganismi. I patogeni hanno sviluppato un insieme di strategie per superare questa frontiera ben organizzata tra l'ospite e il mondo esterno: i microrganismi in grado di avviare un processo infettivo spesso aderiscono in maniera specifica alle cellule epiteliali, attraverso **interazioni proteina-proteina** tra molecole presenti sulla superficie del patogeno e della cellula ospite. Un microrganismo infettante non aderisce a tutte le cellule epiteliali con la stessa efficienza, ma interagisce in maniera selettiva con le cellule della particolare regione del corpo alla quale ha normalmente accesso. Ad esempio, le fimbrie dei ceppi *E. coli* UPEC che invadono le vie urinarie contengono recettori specifici per i carboidrati (lectine) che si legano agli oligosaccaridi contenenti mannosio presenti nelle glicoproteine dell'epitelio della vescica, impedendo così che il flusso dell'urina ne faccia fuoriuscire i microrganismi. Altre strutture proteiche presenti sulla superficie di questi e di altri batteri patogeni capaci di interagire con le cellule ospiti e di dare inizio al processo di adesione sono i pili, strutture filamentose che si estendono dalla superficie della cellula batterica e presenti in numero variabile (fig. 6.5).



Figura 6.5 Fotografia al microscopio elettronico di *Escherichia coli* che mostra la presenza sulla superficie di pili e fimbrie.

Neisseria gonorrhoeae, l'agente eziologico della gonorrea, una malattia trasmessa sessualmente, aderisce molto più saldamente alle cellule dell'epitelio urogenitale che a quelle di altri tessuti, attraverso una proteina di superficie chiamata Opa. Opa interagisce in maniera altamente specifica con la proteina CD66 presente sulla superficie delle cellule ospiti ed espressa soltanto nelle cellule epiteliali umane. Quindi, l'inizio del processo infettivo da parte di *N. gonorrhoeae* è strettamente dipendente da un'interazione ligando-recettore. Questo principio si estende alla specificità dell'ospite. In molti casi, un ceppo batterico che infetta normalmente l'uomo aderisce molto più efficacemente alle cellule umane di un dato tessuto che non alle cellule del corrispondente tessuto in un altro animale, ad esempio il ratto, e viceversa.

Gli studi sulle diarree causate da *E. coli* hanno fornito molte informazioni sulle interazioni tra batteri patogeni e cellule epiteliali delle mucose. La maggior parte dei ceppi di *E. coli* non è patogena e fa parte del microbiota dell'intestino cieco e del colon. In genere nell'organismo sono presenti, nello stesso momento, diversi ceppi, e molti batteri non patogeni attraversano l'organismo per venire poi eliminati nel materiale fecale. Soltanto alcuni ceppi di *E. coli* sono enteropatogeni, ovvero possiedono la capacità di colonizzare l'intestino tenue, produrre enterotossine e dare inizio a diarrea e altre malattie. Questi ceppi possiedono specifiche strutture di superficie dette **CFA (fattori antigenici di colonizzazione)**, costituite da proteine organizzate in fimbrie e coinvolte nell'adesione specifica alle cellule dell'intestino tenue. I ceppi non patogeni di *E. coli* raramente possiedono le proteine CFA.

Anche la composizione genetica dell'ospite può influenzare la sensibilità o la resistenza alla colonizzazione batterica. Ad esempio, i sierotipi K88 e K99 di *E. coli* colonizzano il tratto intestinale di alcuni maialini, ma non di altri o di altre specie, che risultano, infatti, prive di recettori di membrana.

Biofilm batterici

Alcune macromolecole responsabili dell'adesione dei batteri alla cellula ospite non sono legate covalentemente alla superficie batterica: esse sono rappresentate generalmente da **polisaccaridi** sintetizzati e secreti dal batterio. Il rivestimento costituito da polimeri, che forma uno strato denso, ben definito intorno alla cellula, è noto come **capsula**, la rete a trama larga di fibre polimeriche che si estende dalla superficie della cellula è nota come **glicocalice**, mentre una diffusa massa di fibre polimeriche, apparentemente staccata dalla cellula, è chiamata **strato mucillaginoso** (fig. 6.6). Queste strutture possono essere importanti per l'adesione non soltanto ai tessuti dell'ospite, ma anche tra le cellule batteriche stesse. Inoltre, questi strati di natura polisaccaridica possono proteggere i batteri dai meccanismi di difesa dell'ospite come la fagocitosi.

Molti batteri patogeni, quali ad esempio *E. coli*, *P. aeruginosa* e *S. aureus* producono un'abbondante matrice mucopolisaccaridica extra-cellulare che prende il nome di **slime** o **glicocalice**. Lo slime (letteralmente melma) favorisce l'adesività batterica e la produzione del **biofilm**. Il biofilm è definito come una comunità (vegetazione) di germi inclusi in un substrato di polimeri organici (EPS: sostanza esopolimerica) che aderisce a una superficie naturale o artificiale (fig. 6.7). Negli ultimi anni si è avuta sempre più ampia dimostrazione che i biofilm batterici rappresentano un importante fattore di morbidità e mortalità nella maggior parte delle malattie infettive. Circa l'80% della biomassa microbica del mondo risiede nello stato di biofilm, e il National Institutes of Health (NIH) stima che oltre il 75% delle infezioni microbiche che avvengono nel corpo umano sia sostenuto dalla formazione di biofilm.

Questa struttura è un fattore di virulenza in infezioni quali la carie dentale, le periodontiti, le colecistiti, le osteomieliti, le prostatiti, le cistiti, le endocarditi, l'otite media acuta, la sinusite, la fibrosi cistica e riacutizzazioni infettive delle bronco-pneumopatie croniche ostruttive. Il biofilm svolge, inoltre, un ruolo primario nel promuovere la colo-



Figura 6.6 Colonne di *Bacillus anthracis*. La presenza della capsula, composta da poli-D-glutammato, conferisce alle colonie batteriche un aspetto mucoso. La capsula è un determinante essenziale della virulenza, protegge i batteri dalla fagocitosi da parte delle cellule del sistema immunitario dell'ospite durante il processo infettivo.

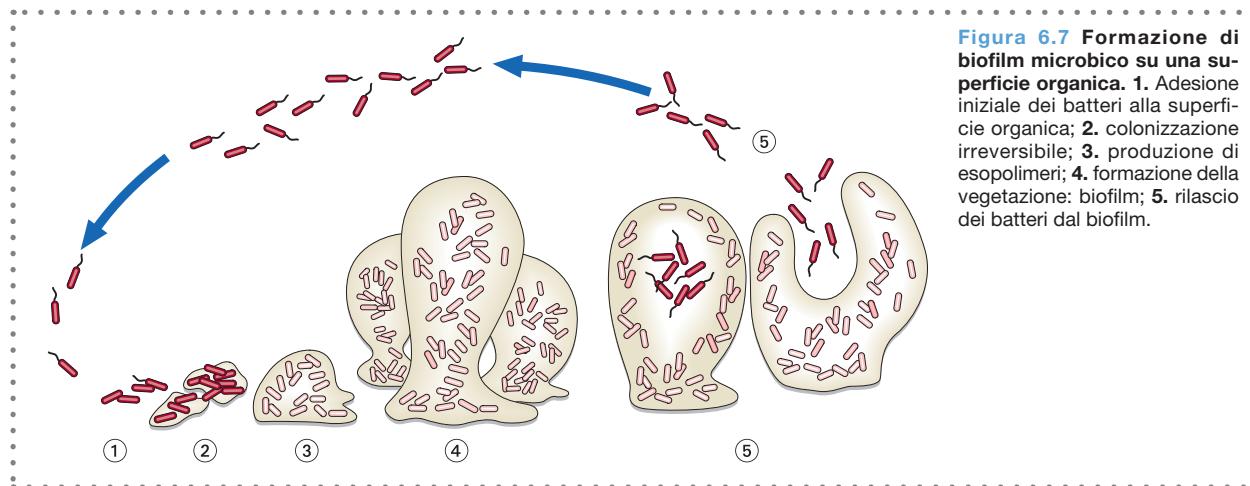


Figura 6.7 Formazione di biofilm microbico su una superficie organica. 1. Adesione iniziale dei batteri alla superficie organica; 2. colonizzazione irreversibile; 3. produzione di esopolimeri; 4. formazione della vegetazione: biofilm; 5. rilascio dei batteri dal biofilm.

nizzazione di corpi estranei come dispositivi medici impiantabili quali: protesi o cateteri vascolari e urinari, valvole cardiache e protesi ortopediche. Uno dei principali ruoli del biofilm è proteggere i microrganismi dall'azione degli antibiotici mantenendo vitali i germi al suo interno e interferire con i meccanismi di difesa dell'ospite quali la fagocitosi, l'attività degli anticorpi e del complemento. Il lento metabolismo, la ridotta velocità di replicazione delle cellule, la bassa tensione di ossigeno, l'effetto di adsorbimento aspecifico da parte della matrice polisaccaridica, la riduzione del pH e dell'osmolarità sono tutte condizioni che producono una resistenza fenotipica a molte classi di farmaci, tra cui principalmente aminoglicosidi, β -lattamici, fluorochinoloni e glicopeptidi.

Una delle principali spiegazioni per l'ampio interesse dimostrato nello studio dei biofilm microbici in ambito biomedico è proprio la continua emergenza e la severa minaccia di batteri antibiotico-resistenti.

La formazione di biofilm, come pure la produzione di numerosi altri fattori di virulenza, sono fortemente influenzate da pathway di **quorum sensing (QS)**, termine utilizzato per descrivere come i batteri comunicano tra loro nel tentativo di modificare, in maniera coordinata, l'espressione genica all'interno della popolazione. Numerosi studi hanno dimostrato che l'inibizione di determinati pathway di QS può portare alla formazione di biofilm che presentano differenze morfologiche nella struttura della biomassa. Inoltre, è noto che le comunità batteriche sessili dei biofilm differiscono notevolmente rispetto alle loro controparti planctoniche; esse sono descritte come entità complesse e dinamiche che verosimilmente rappresentano il tentativo evolutivo dei batteri di sopravvivere alle innumerevoli pressioni ambientali. Le caratteristiche del biofilm giustificano le difficoltà incontrate nella terapia di infezioni croniche, quali ad esempio la fibrosi cistica e la bronchite con le sue esacerbazioni. L'uso degli antibiotici ha infatti efficacia solo sulla frazione planctonica dei patogeni in causa e la conseguente diminuzione della carica microbica rende ragione del successo temporaneo della terapia e della remissione dei sintomi. La mancata eradicazione delle cellule batteriche del biofilm mantiene attivo il focus infettivo che resta destinato a perpetuare il quadro clinico. Questo processo spiegherebbe così l'eziopatogenesi delle riacutizzazioni. Appare quindi evidente il motivo delle intense ricerche volte alla scoperta di molecole e agenti biologici capaci di disgregare il biofilm o di impedirne la formazione, tra cui alcune molecole antinfiammatorie, detergenti tipo SDS, antibiotici e sostanze chimiche quali EDTA e N-acetilcisteina (NAC), citrato ferrico di ammonio, analoghi degli acil-omoserina-lattoni (AHL), sostanze naturali come i furanoni alogenati e batteriofagi, che si spera di poter utilizzare con successo in terapia.

Invasione, crescita e moltiplicazione del parassita nell'ospite

Per alcuni microrganismi, la patogenicità è associata unicamente alla produzione di tossine e i patogeni non necessitano di penetrare nei tessuti dell'ospite per esplicare i loro effetti. Tuttavia, la maggior parte dei patogeni, per iniziare il processo infettivo, penetra nell'epitelio mediante un meccanismo definito **invasione**. Nel punto di ingresso, generalmente a livello di piccole rotture o lesioni della pelle o della superficie mucosa, inizia spesso la proliferazione. L'invasione dei tessuti dell'ospite può quindi essere facilitata dalla produzione di proteine extracellulari che agiscono localmente per facilitare la crescita e la diffusione del patogeno e/o per danneggiare le cellule dell'ospite; tali proteine sono definite **invasine**. La diffusione dei microrganismi può ad esempio essere facilitata dalla secrezione di enzimi degradativi come la **collagenasi** (Clostridi), che degrada la trama di collagene che sostiene i tessuti favorendo la diffusione, o di enzimi che piuttosto che favorire la diffusione favoriscono la localizzazione o la protezione, come l'**attivatore del plasminogeno** (Streptococchi).

Vi sono però alcuni batteri che invadono i tessuti anche **in assenza di un danno fisico**. *N. meningitidis* e *N. gonorrhoeae* sono in grado di invadere rispettivamente l'epitelio orofaringeo e genitourinario per endocitosi dalle cellule epiteliali, trasportati al loro interno in vacuoli e liberati nello spazio submucoso, da dove invadono i tessuti sottostanti (in un processo definito transcitosi). *H. influenzae* penetra nell'organismo passando attraverso le giunzioni delle cellule epiteliali. Le Salmonelle inducono i macrofagi gastrointestinali dell'ospite (contenuti ad esempio nelle placche di Peyer) per essere da loro fagocitate, resistono all'azione dei fagolisosomi e successivamente proliferano passando nel torrente ematico. Anche *Shigella* ed *E. coli* enteroinvasivi (EIEC) sono assunti per endocitosi dalle cellule intestinali. Alcuni dei geni che determinano l'invasività nei batteri enteropatogeni sono portati da elementi genetici extracromosomici come plasmidi che codificano per proteine batteriche superficiali.

Per altri patogeni, inclusi alcuni batteri (*Rickettsia rickettsii* e *Yersinia pestis*) e parassiti (*Plasmodium* e *Trypanosoma*), può essere necessario l'intervento di un **vettore artropode** in grado di provocare soluzioni di continuo che ne permettano l'ingresso in circolo.

Se un microrganismo patogeno riesce ad accedere ai tessuti, può crescere e moltiplicarsi dando avvio alle manifestazioni patogenetiche. L'inoculo iniziale raramente è sufficiente per provocare danni all'ospite; per indurre la malattia il patogeno deve potersi riprodurre, e per questo deve trovare le sostanze nutritive e le condizioni ambientali appropriate. La temperatura, il pH e il potenziale ossido-riduttivo sono alcuni dei fattori ambientali che influenzano la crescita di un microrganismo, ma la **disponibilità di sostanze nutritive**, all'interno dei tessuti dell'ospite, è un fattore estremamente importante. Sebbene per il microrganismo infettante l'ospite possa sembrare un paradiso nutrizionale, non tutte le sostanze necessarie sono presenti in quantità sufficienti. I nutrienti solubili come gli zuccheri, gli aminoacidi e gli acidi organici sono spesso presenti in quantità limitate: sono quindi favoriti i microrganismi in grado di utilizzare composti complessi, come il glicogeno. Non tutte le vitamine e gli altri fattori di crescita sono presenti in quantità sempre sufficiente e in tutti i tessuti. *Brucella abortus*, ad esempio, può crescere molto lentamente nella maggior parte dei tessuti del bestiame infettato, ma proliferà molto rapidamente nella placenta, provocando aborti. Ciò è dovuto al fatto che nella placenta vi è un elevato contenuto di eritritolo, un nutriente che promuove la crescita di questo microrganismo.

Anche alcuni oligoelementi possono essere presenti in quantità così limitata da influenzare la colonizzazione del patogeno. A tale proposito esistono numerose evidenze riguardanti il ruolo svolto dal **ferro** nella crescita microbica. Alcune proteine specifiche, presenti nell'ospite, come la transferrina e la lattoferrina, legano il ferro molto efficientemente e lo trasportano in tutto il corpo. L'affinità di queste proteine

per il ferro è talmente elevata che i microrganismi infettanti si possono ritrovare spesso in carenza di ferro; la somministrazione in un animale infettato di sali di ferro solubili, attraverso la dieta o per iniezione, aumenta enormemente la virulenza di alcuni patogeni. Molti batteri, inoltre, producono composti in grado di chelare il ferro, chiamati **siderofori**, che consentono al microrganismo di ottenere ferro dall'ambiente. Alcuni di questi siderofori, isolati da batteri patogeni, sono composti ad altissima affinità per il ferro, tanto che riescono a rimuoverlo dalle proteine dell'ospite. L'aerobactina, ad esempio, un sideroforo prodotto da alcuni ceppi di *E. coli*, codificato da geni localizzati sul plasmide Col V, è in grado di rimuovere facilmente il ferro legato alla transferrina.

Dopo la penetrazione, il microrganismo spesso rimane localizzato e comincia a moltiplicarsi, producendo un focolaio d'infezione. In alternativa, i microrganismi possono attraversare i vasi linfatici e depositarsi nei linfonodi. Se un microrganismo raggiunge i vasi sanguigni, può essere distribuito nei vari distretti del corpo, concentrandosi, generalmente, nel fegato e nella milza. La diffusione di un patogeno tramite il sangue e il sistema linfatico può determinare un'**infezione generalizzata (sistematica)** dell'ospite, con il microrganismo che prolifera in vari tessuti. Se invece si verifica una crescita massiva dei microrganismi nei tessuti, essi possono riversarsi in gran numero nel flusso sanguigno, determinando una condizione patologica nota come **batteriemia**.

6.6 - Cambiamenti adattativi della virulenza

L'infezione ha un impatto rilevante sia sui microrganismi sia sull'ospite. È sempre più evidente che il microrganismo si adatta alle modificazioni dell'ambiente attraverso complessi meccanismi regolatori, attivando i fattori di virulenza necessari per l'invasione e la sopravvivenza nei tessuti dell'ospite.

Gli adattamenti osservati che influenzano la sopravvivenza in un ospite, e quindi la virulenza, includono i cambiamenti nella formazione di fimbrie e flagelli, nella quantità di altri antigeni di superficie, nella formazione di porine, nella secrezione di tossine ed enzimi, nella chemiotassi e nell'assimilazione di sostanze nutritive.

Anche se la maggior parte dei fattori di regolazione ambientale è ancora in gran parte sconosciuta, da lungo tempo è noto che il ferro svolge un ruolo decisivo nel regolare la formazione della tossina difterica e di altri determinanti di virulenza, come la tossina Shiga-like di *E. coli* enterotoemorragico (EHEC), che vengono espressi in un ambiente in cui sia presente una bassa concentrazione di ferro libero, condizione che si riscontra appunto nell'ospite per lo stretto legame del ferro con la transferrina e altre proteine. La temperatura ha un notevole effetto sulla formazione di molte proteine di superficie; le specie di *Yersinia*, *Shigella* e *Bordetella*, infatti, esprimono fattori di virulenza a 36 °C, temperatura cui è probabile che i microrganismi siano esposti al momento dell'infezione. Coltivare *Shigella* a 30 °C piuttosto che a 36 °C diminuisce in modo notevole la virulenza di questo batterio.

Molti di questi fattori di virulenza batterica sono controllati da sistemi regolatori a due componenti: una componente proteica rileva i cambiamenti ambientali e li segnala, spesso mediante fosforilazione, a una seconda proteina che in modo coordinato regola l'espressione di un gruppo di geni, i prodotti dei quali facilitano la sopravvivenza nell'ambiente. Tra i vari meccanismi di regolazione coordinata in corso di caratterizzazione, possiamo menzionare quello sotto il controllo del gene *toxR* di *Vibrio cholerae* che coordina la formazione di tossine, fimbrie e varie proteine situate sulla membrana esterna.

Insieme ai meccanismi di regolazione genica, che influenzano le quantità dei vari prodotti genici attraverso la repressione o l'induzione immediatamente reversibili, altre importanti strategie adottate dai batteri per meglio adattarsi ai continui cambiamenti microambientali riscontrati nell'ospite nel corso del ciclo infettivo sono rappre-

sentate dalla **variazione di fase**, cioè l'oscillazione reversibile tra stati di espressione alternativa di un gene, e dalla **variazione antigenica**, ovvero la capacità di elaborare versioni strutturalmente differenti dei principali antigeni di superficie. Tali meccanismi consentono alle cellule batteriche di modificare l'espressione dei determinanti di virulenza, favorendo la selezione e la crescita preponderante delle varianti maggiormente patogene per l'ospite.

6.7 - Tropismo

Al fine di infettare in maniera efficiente, molti patogeni occupano nell'ospite una **nicchia altamente specifica**, presentando quindi un tropismo per una particolare sede corporea o tipo cellulare. Il tropismo specie-specifico e tessuto-specifico è spesso determinato dalle adesine espresse sulla superficie delle cellule batteriche, oltre che da capacità intrinseche del batterio. Questa forma di tropismo ha molte implicazioni per il ciclo vitale dell'agente patogeno, per il sistema immunitario dell'ospite e per il processo patologico. Il patogeno *Helicobacter pylori*, ad esempio, produce l'enzima ureasi, che, scindendo l'urea per formare lo ione ammonio e biossido di carbonio, consente al microrganismo di vivere in un ambiente neutro, nell'ambito dell'epitelio gastrico altamente acido. È noto che il SNC è protetto in maniera unica dalle alterazioni dell'ambiente ad opera della barriera ematoencefalica (BEE), un sistema di giunzioni serrate a livello dei capillari, che resiste all'ingresso di cellule infiammatorie, di patogeni e di macromolecole negli spazi sub-aracnoidei. Tuttavia, alcuni agenti patogeni hanno sviluppato meccanismi altamente specializzati, anche se non ancora del tutto compresi, che consentono di oltrepassare questa barriera. Alcuni batteri capsulati, infatti, provenienti dal torrente circolatorio, possiedono componenti di superficie che consentono loro di attraversare le giunzioni capillari della BEE. Il grado di specializzazione richiesto per questi meccanismi è dimostrato dalla capacità, da parte di alcuni sierotipi, nell'ambito della stessa specie, di causare meningite. Il sierotipo III dello streptococco di gruppo B, ad esempio, è responsabile della grande maggioranza dei casi di meningite causati da questo microrganismo, anche se altri sierotipi provocano una malattia molto più invasiva al di fuori del SNC. Questa differenza sembra essere dovuta soltanto alla disposizione della componente glucidica del polisaccaride capsulare; altri sierotipi dello streptococco di gruppo B, infatti, raramente causano meningite, in quanto le loro capsule pur possedendo gli stessi quattro componenti glucidici, li esprimono con una disposizione strutturale diversa.

6.8 - Fattori di virulenza

I batteri patogeni producono una serie di **proteine extracellulari** che promuovono la patogenesi, ovvero favoriscono lo stabilirsi e il mantenimento della malattia. Queste proteine sono dette **"fattori di virulenza"** (tab. 6.4). Patogeni diversi producono fattori di virulenza diversi, che spesso, però, hanno caratteristiche molecolari o meccanismi d'azione simili.

La maggior parte dei fattori di virulenza sono **enzimi** che intervengono nella colonizzazione e diffusione e favoriscono la crescita batterica. La **ialuronidasi**, prodotta da streptococchi, stafilococchi e da alcuni clostridi, è un enzima che promuove la diffusione dei microrganismi nei tessuti dell'ospite, in quanto capace di degradare l'acido ialuronico, un polisaccaride che svolge funzione di collante nei tessuti. Gli streptococchi e gli stafilococchi producono, inoltre, un vasto assortimento di proteasi, nucleasi e lipasi, che servono per depolimerizzare le macromolecole dell'ospite, proteine, acidi nucleici e lipidi rispettivamente. I clostridi producono una collagenasi, o tossina k, che degradando la trama di collagene che sostiene i tessuti favorisce la diffusione dei microrganismi. Alcuni microrganismi producono enzimi fibrinolitici che dissolvono

Tabella 6.4 Principali fattori di virulenza extracellulari prodotti da microrganismi patogeni umani.

Microrganismo	Fattore di virulenza*	Attività
<i>Bacillus anthracis</i>	Fattore letale (LF) Fattore edematoso (EF) Antigene protettivo (PA) (AB)	PA si lega alla cellula, EF è responsabile dell'edema, LF causa la morte cellulare
<i>Bordetella pertussis</i>	Tossina della pertosse (AB)	Blocca la trasduzione del segnale che parte dalle proteine G, uccide le cellule
	Tossina adenilato-cicasica	Aumento di cAMP, inibisce la chemiotassi dei leucociti e la fagocitosi
	Citotossina tracheale	A basse concentrazioni provoca ciliostasi, ad alte distruzione dell'epitelio ciliato, interferisce con la sintesi del DNA
<i>Clostridium botulinum</i>	Neurotossina (AB)	Paralisi flaccida
<i>Clostridium tetani</i>	Neurotossina (AB)	Paralisi spastica
<i>Clostridium perfringens</i>	Tossina α (CT)	Emolisi (lecitinasi)
	Tossina β (CT)	Emolisi
	Tossina γ (CT)	Emolisi
	Tossina δ (CT)	Emolisi (cardiotossina)
	Tossina κ (C)	Collagenasi
	Tossina λ (E)	Proteasi
	Enterotossina (CT)	Altera la permeabilità dell'epitelio intestinale
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Tossina difterica (AB)	Inibisce la sintesi proteica nelle cellule eucariotiche
<i>Escherichia coli</i> enteropatogeni (EPEC)	Enterotossina (AB)	Induce la perdita di liquidi dalle cellule intestinali
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Esotossina A (AB)	Inibisce la sintesi proteica
<i>Salmonella</i> spp.	Enterotossina (AB)	Induce la perdita di liquidi dalle cellule intestinali
	Citotossina (CT)	Inibisce la sintesi proteica e lisa le cellule ospiti
<i>Shigella dysenteriae</i>	Tossina Shiga (AB)	Inibisce la sintesi proteica
<i>Staphylococcus aureus</i>	Tossina α (CT)	Emolisi
	Tossina della sindrome dello shock tossico (SA)	Shock sistematico
	Tossine esfolianti A e B (SA)	Esfoliazione, shock
	Leucocidina (CT)	Distruzione dei leucociti
	Tossina β (CT)	Emolisi
	Tossina γ (CT)	Distruzione delle cellule ospiti
	Tossina δ (CT)	Emolisi, leucolisi
	Enterotossine A, B, C, D, E (SA)	Inducono diarrea, vomito e shock
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Coagulasi (E)	Induce la formazione di coaguli di fibrina
	Streptolisina O (CT)	Emolisi
	Streptolisina S (CT)	Emolisi
	Tossina eritrogenica (SA)	Esantema da scarlattina
	Streptochinasi (E)	Dissolve i coaguli di fibrina
<i>Vibrio cholerae</i>	Ialuronidasi (E)	Dissolve l'acido ialuronico del tessuto connettivo
	Enterotossina (AB)	Induce perdita di liquidi dalle cellule intestinali

* AB, tossina A-B; CT, tossina citolitica; E, fattore di virulenza con attività enzimatica; SA, superantigene.

i coaguli di fibrina che si formano in corrispondenza di una lesione tissutale per delimitare l'infezione, favorendo quindi l'invasione. Una di queste sostanze fibrinolitiche, prodotta da *Streptococcus pyogenes*, è conosciuta come **streptochinasi**. Alcuni microrganismi sintetizzano invece enzimi che promuovono la formazione di coaguli di fibrina, che fanno sì che il microrganismo, piuttosto che diffondere, rimanga localizzato e protetto. Il più studiato di questi enzimi è la **coagulasi**, prodotta da *S. aureus*, che

Tabella 6.5 Struttura e meccanismo d'azione delle principali tossine batteriche.

Tossina	Struttura*	Meccanismo d'azione
Tossina difterica	A + B	ADP-ribosila il fattore di elongazione 2 (EF-2), inibendo la sintesi proteica
Tossina colerica	A + 5B	ADP-ribosila le proteine G; stimola l'adenilato-ciclaso, promuovendo la secrezione di fluidi ed elettroliti nel lume intestinale
Tossina pertussica	A + 5B	ADP-ribosila le proteine G; blocca l'inibizione dell'adenilato-ciclaso
Tossina termolabile di <i>E. coli</i> (LT-1 e LT-2)	A + 5B	ADP-ribosila le proteine G; stimola l'adenilato-ciclaso, promuovendo la secrezione di fluidi ed elettroliti nel lume intestinale
Tossina termostabile di <i>E. coli</i> (STa e STb)	A	Attiva la guanilato-ciclaso, promuovendo la secrezione di fluidi ed elettroliti nel lume intestinale
Tossina botulinica	A + B	Inibisce il rilascio di acetilcolina dalle vescicole presinaptiche a livello delle terminazioni dei motoneuroni stimolatori, in corrispondenza delle giunzioni neuromuscolari
Tossina tetanica	A + B	Blocca il rilascio di glicina, e di altri neurotrasmettitori inibitori, a livello delle terminazioni degli interneuroni inibitori con conseguente rilascio continuo di acetilcolina da parte dei motoneuroni

*A indica la subunità dotata di attività enzimatica; B indica la subunità che media il legame con il recettore sulla superficie della cellula ospite.

induce la formazione di un deposito di fibrina sui cocci stessi, proteggendoli, quindi, dall'attacco delle cellule ospiti.

Le **esotossine** sono proteine rilasciate nell'ambiente circostante da un microrganismo in crescita che possono diffondere dal focolaio d'infezione verso altre parti del corpo e provocare danni lontano dal sito di produzione (tab. 6.5). La maggior parte delle esotossine ricade in una delle tre seguenti categorie: tossine citolitiche, tossine A-B e tossine superantigeniche. Le **tossine citolitiche** sono enzimi che attaccano i costituenti cellulari. Vari patogeni producono proteine capaci di ledere la membrana citoplasmatica delle cellule animali, provocandone la lisi e la morte. Anche se agiscono su più tipi cellulari, l'attività delle tossine è particolarmente evidente sui globuli rossi, da qui il nome di **emolisine**. La produzione di emolisine è facilmente evidenziabile in laboratorio strisciando il microrganismo su una piastra di agar sangue (fig. 6.8). Durante la crescita delle colonie, l'emolisina rilasciata dal batterio lisa gli eritrociti circostanti, creando una tipica zona di emolisi (come ad esempio quelle prodotte da *S. pyogenes*).

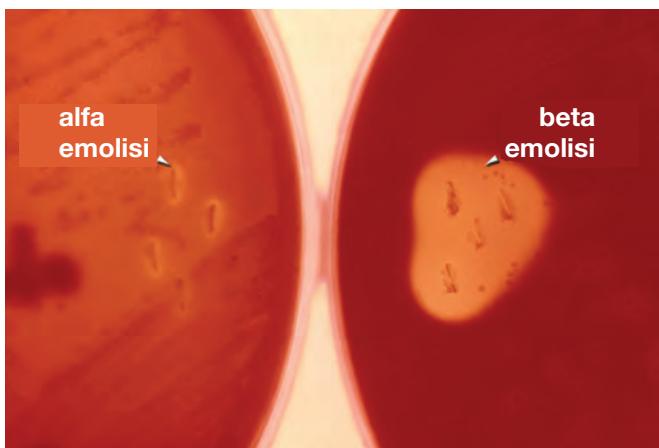


Figura 6.8 Formazione di zone di emolisi intorno a colonie batteriche che producono emolisine, cresciute su agar sangue. Nella piastra a sinistra *Streptococcus mitis*, un batterio α -emolitico, forma colonie circondate da zone di emolisi parziale; nella piastra a destra, invece, *Streptococcus pyogenes* di Gruppo A (GAS), un tipico batterio β -emolitico, forma colonie circondate da zone di emolisi complete.

B

VIROLOGIA MEDICA

Capitolo

59

Filovirus

- Classificazione dei filovirus
- Virus Ebola: morfologia e struttura del genoma
- Meccanismi patogenici e clinica dell'infezione da virus Ebola

I filovirus sono **virus a RNA** che devono il nome alla parola latina "filum" per la forma simile a un filo molto spesso che caratterizza la particella virale. Sono fra gli agenti più patogeni per l'uomo in quanto provocano gravi febbri emorragiche molto spesso letali (il tasso di mortalità può superare il 90% dei soggetti colpiti).

Il primo filovirus fu scoperto nel 1967 in Germania quando soggetti appartenenti a personale di laboratorio, venuti in contatto con organi e sangue di scimmie verdi importate dall'Uganda, svilupparono una grave **sindrome emorragica**. Al microscopio elettronico fu identificato un agente virale, chiamato virus di Marburg (MARV) dal nome della cittadina tedesca sede dell'incidente. In totale 32 persone contrassero l'infezione e 7 morirono. Un secondo filovirus fu descritto per la prima volta in Africa nel 1976, come causa di due focolai di febbre emorragica sviluppatisi contemporaneamente in Zaire (oggi Repubblica Democratica del Congo) e Sudan. Il virus fu chiamato Ebola (EBOV), dal nome del fiume presso il villaggio di Yambuku, nello Zaire, dove scoppiò l'epidemia. In totale furono colpiti 602 persone, 430 (71%) morirono.

59.1 - Classificazione

Oggi si conoscono 7 filovirus classificati all'interno di tre generi nella famiglia **Filoviridae** (tab. 59.1). Il genere *Cuevavirus*, l'ultimo ad essere introdotto dopo che erano stati creati nell'ordine i generi *Marburgvirus* ed *Ebolavirus*, è stato approvato solo di recente in seguito alla scoperta, nel 2010, del primo filovirus europeo, chiamato virus di Lloiu, dal nome della grotta in Spagna nella quale è stato identificato nei pipistrelli.

59.2 - Virus Ebola (EBOV)

Struttura

La particella del virus è **pleiomorfa** (la forma più tipica è filamentosa allungata, ma anche a numero 6, a lettera U, o circolare) con diametro di circa 80 nm, è rivestita da

Tabella 59.1 Classificazione dei virus appartenenti alla famiglia *Filoviridae*.

Genere	Numero di specie all'interno del genere	Specie rappresentativa
<i>Cuevavirus</i>	1	Virus di Lloiu (LLOV)
<i>Ebolavirus</i>	5	Virus Bundibugyo (BDBV) Virus Zaire (ZEBOV) Virus Reston (RESTV) Virus Sudan (SUDV) Virus Tai Forest (TAFV)
<i>Marburgvirus</i>	1	Virus di Marburg (MARV)

un involucro esterno caratterizzato da proiezioni (i peplomeri) di circa 10 nm e racchiude un **nucleocapside elicoidale** di circa 50 nm di diametro provvisto di un canale centrale di 10-15 nm e avvolto dalla proteina della matrice (fig. 59.1).

Il **genoma** è un singolo filamento negativo di RNA, lungo approssimativamente 19 000 nucleotidi e caratterizzato da una porzione codificante composta da 7 geni, separati da brevi regioni non tradotte. Alle estremità del genoma ci sono brevi regioni, di lunghezza variabile fra i diversi ebolavirus, chiamate *leader* e *trailer*, che funzionano da promotori per la replicazione e la trascrizione. Le proteine codificate da EBOV sono: la **glicoproteina** (GP), le quattro **proteine del nucleocapside** (VP24, VP30, VP35 e VP40), la **nucleoproteina** (NP) e l'**RNA polimerasi-RNA dipendente** (L) (tab. 59.2). La GP è la proteina dell'involucro esterno, è codificata da due ORF ed è espressa dopo editing trascrizionale. Svolge un importante ruolo nel mediare le fasi di adsorbimento e penetrazione del virus. Attraverso un processo di "RNA editing", sono codificate altre proteine, di dimensioni diverse, che rappresentano forme solubili della GP. La VP24 e VP40 sono proteine della matrice. VP40 è la proteina più abbondante nel virione e, posta al di sotto dell'involucro, serve a mantenere l'integrità strutturale della particelle virale. Svolge anche un ruolo fondamentale nei processi di assemblaggio e gemmazione del virus. Le proteine NP, VP30, VP35 e L, associate all'RNA virale, formano il nucleocapside.

La NP è la componente strutturale principale del complesso nucleocapsidico, ma svolge anche un ruolo funzionale partecipando alla replicazione e trascrizione del genoma operate dalla proteina L. Quest'ultima esplica la sua azione catalitica in un complesso che comprende anche la VP30, che è un attivatore della trascrizione, e la VP35, che è un cofattore della polimerasi. Alcune proteine, in particolare VP24 e VP35, favoriscono l'evasione del virus dalla risposta immunitaria e in particolare dall'azione antivirale del sistema interferon (tab. 59.2).

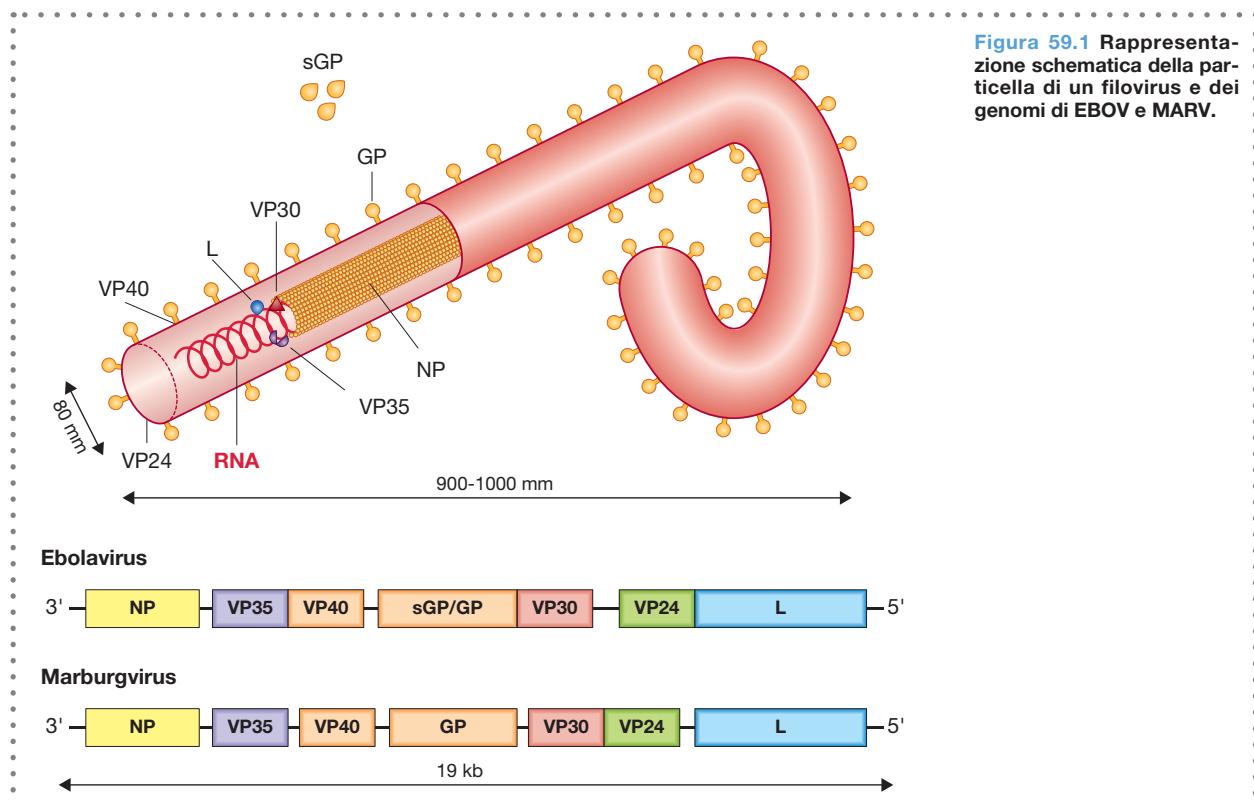


Tabella 59.2 Proteine codificate dai filovirus e loro funzione.

Proteina	Funzione	Peso molecolare (kDa)
Nucleoproteina (NP)	Nucleoproteina maggiore, incapsidazione dell'RNA	90-104
VP35	Cofattore del complesso della polimerasi, antagonista dell'interferon	35
VP40	Proteina maggiore della matrice, assemblaggio e liberazione del virione, antagonista dell'interferon ^a	35-40
Glicoproteina (GP)	Entrata del virione, binding del recettore, fusione della membrana	150-170
Glicoproteina solubile (sGP) ^b	Sconosciuta	50-55
Piccola glicoproteina solubile (ssGP) ^b	Sconosciuta	50-55
VP30	Nucleoproteina minore, incapsidazione dell'RNA, attivazione della trascrizione	27-30
VP24	Proteina minore della matrice, assemblaggio del virione, antagonista dell'interferon ^c	24-25
Polimerasi (L)	RNA polimerasi-RNA dipendente, componente enzimatico del complesso della polimerasi	~270

^a Funzione dimostrata solo per MARV.^b Espressa soltanto da EBOV.^c Funzione dimostrata solo per EBOV.

Replicazione

EBOV utilizza diversi recettori per adsorbirsi sulla superficie della cellula ospite; si ritiene peraltro che la potenzialità di infettare diversi tipi di cellule abbia un significato patogenetico preciso. Dopo l'adsorbimento, il virus penetra per endocitosi mediata da recettore. L'acidificazione della vescicola endocitica, seguita dalla fusione delle membrane virali e della cellula ospite, rilascia il nucleocapside nel citoplasma. Successivamente l'RNA polimerasi-RNA dipendente, presente nel virione, trascrive in direzione 3'-5' il genoma parentale in singoli mRNA monocistronici poliadenilati e dotati di cap che codificano per le proteine virali. L'mRNA della proteina NP è presente già 7 ore dopo l'infezione con un picco a 18 ore. La proteina VP30 gioca un ruolo fondamentale in queste fasi della **trascrizione**, e in particolare appare critico il suo stato di fosforilazione. In aggiunta alla trascrizione, il promoter al 3' dell'RNA genomico guida la sintesi di antigenomi complementari a tutta lunghezza ad opera di molecole della polimerasi prodotte nell'ambito delle nuove sintesi proteiche virali. Strutture secondarie presenti al 3' e 5' degli RNA genomici e antigenomici sono essenziali per la **replicazione**. Il passaggio dalla sintesi di RNA subgenomici a quella degli antigenomi avviene quando è stata prodotta una certa quantità di proteine (soprattutto NP). La deplezione delle proteine capsidiche determina un ritorno alla sintesi degli mRNA, venendo così a innescarsi una sorta di equilibrio dinamico fra trascrizione e replicazione. Come la replicazione progredisce, le particelle nucleocapsidiche contenenti RNA genomico si accumulano per l'assemblaggio. I nucleocapsidi acquisiscono il pericapside per gemmazione attraverso le membrane cellulari nelle quali sono state precedentemente inserite le proiezioni. Numerosi nucleocapsidi restano inutilizzati e formano evidenti inclusioni citoplasmatiche.

Meccanismi patogenetici – Immunità – Patologie associate all'infezione

Non si sa ancora con certezza come EBOV infetti la specie umana e penetri quindi all'interno delle comunità. Il contatto con sangue e/o secrezioni o l'ingestione di carne di animali infetti appare il modo più probabile di **trasmissione primaria**. Quella secon-

daria, da uomo a uomo, avviene attraverso contatto diretto con organi, sangue e altri fluidi corporei (saliva, urina, vomito, fuci) di un individuo infetto (vivo o morto) con le mucose o la pelle abrasa del soggetto sano, attraverso contatto sessuale o mediante contatto indiretto con oggetti e/o superfici contaminate dal virus. La trasmissione da uomo a uomo è il modo con cui il virus si propaga più facilmente ed è la causa di tutti i focolai epidemici registrati finora. Il rischio di trasmissione è direttamente correlato al numero e all'intimità dei contatti: è maggiore in ambito familiare (fra conviventi) e nosocomiale (nel personale sanitario). Alcuni comportamenti tradizionali, come quelli legati ai riti funebri (ad es. il contatto diretto con il corpo del defunto), hanno un ruolo significativo nella diffusione dell'infezione. Persone asintomatiche che di norma hanno bassi livelli di virus circolante sono meno a rischio di trasmettere l'infezione. La trasmissione aerea è ritenuta improbabile e non esistono evidenze che il virus possa essere trasmesso da insetti o altri artropodi.

I **meccanismi patogenetici** alla base della malattia da EBOV sono solo in parte conosciuti (fig. 59.2). Il periodo di incubazione varia da 2 a 21 giorni (in media 4-10 giorni), durante il quale il virus replica nei monociti, nei macrofagi e nelle cellule dendritiche raggiungendo poi linfonodi, fegato, rene, milza, mucosa gastrointestinale e cute. I primi sintomi sono aspecifici (febbre, brividi, malessere e mialgia) e rendono difficile la diagnosi clinica. Successivamente diventano molto importanti e riguardano molteplici distretti: gastrointestinale (anoressia, nausea, vomito, dolori addominali, diarrea), respiratorio (tosse, insufficienza respiratoria), vascolare (ipotensione posturale, edema) e nervoso (confusione, letargia, coma). Questa fase è caratterizzata da un'intensa viremia con il virus che si dissemina in numerosi organi e tessuti con una

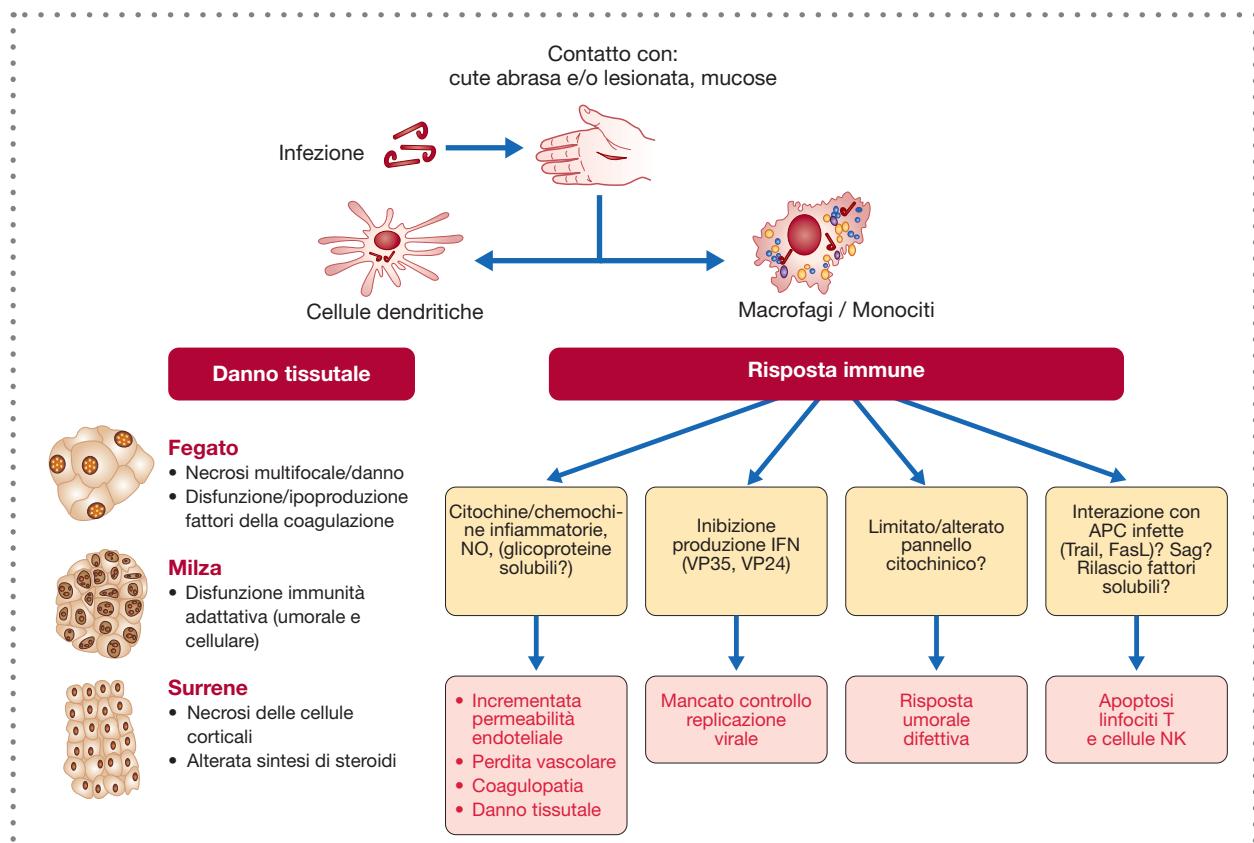


Figura 59.2 Patogenesi dell'infezione da EBOV.

estesa necrosi virus-indotta. Una severa forma di diarrea caratterizzata da notevole perdita di liquidi compare spesso al 3° giorno di malattia, accompagnata da esantema maculo-papulare che si propaga dal viso al tronco e agli arti. Fra il 5° e il 7° giorno, un'elevata percentuale di soggetti va incontro a gravi manifestazioni emorragiche multiple a carico di vari organi (intestino, polmoni, cuore, rene), in gran parte dovute a una coagulazione intravascolare disseminata. La morte avviene fra il 7° e il 16° giorno di malattia, in genere per shock ipovolemico. Nei casi non mortali, la malattia può essere asintomatica o caratterizzata da pochi aspecifici sintomi che in 7°-11° giorno tendono a scomparire, in concomitanza con lo sviluppo di una robusta risposta anticorpale. In coloro che sopravvivono possono persistere sequele di tipo neurologico (mielite), comportamentale (psicosi) e visivo (uveite). Il virus può persistere a lungo in siti immunologicamente privilegiati ed è stato isolato dal liquido seminale anche dopo più di 9 mesi dalla comparsa dei sintomi.

L'elevata virulenza di EBOV è attribuita in gran parte alla capacità del virus di interferire con la risposta immunitaria dell'ospite riducendone sostanzialmente l'efficacia (fig. 59.2). Fin dalle prime fasi dell'infezione, quindi, EBOV causa un'iperproduzione di mediatori dell'infiammazione (interferon, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12), determinando un quadro noto come *cytokine storm* (tempesta citochinica), che contribuisce, insieme all'estesa necrosi tessutale che in qualche modo amplifica il processo, alla progressione della malattia. Anche l'inibizione della risposta all'interferon, svolta principalmente dall'azione delle proteine VP35 e VP24, riveste un ruolo importante nella patogenesi dell'infezione.

È noto che il **tasso di mortalità** dipende anche dalla specie di EBOV infettante: è alto per ZEBOV (47-100%), più basso per SUDV (36-100%) e BDBV (25-36%), mentre RESTV è ritenuto scarsamente patogeno per l'uomo. I meccanismi alla base di queste differenze tra le specie non sono pienamente compresi, ma speculazioni esistono sul ruolo della proteina GP e delle sue forme solubili e sull'esistenza di peculiari tratti genetici dell'ospite infettato (tab. 59.3).

Studi sierologici dimostrano che anticorpi anti-EBOV sono abbastanza diffusi nella popolazione umana e tra animali in Africa (10-20% di sieroprevalenza), a conferma del fatto che casi d'infezione possono verificarsi più frequentemente di quanto ritenuto restando del tutto inosservati.

Diagnosi di laboratorio

L'infezione da EBOV può essere sospettata in una persona con febbre acuta e severa che vive o ha viaggiato nelle aree endemiche per il virus. La sola **diagnosi clinica** è

Tabella 59.3 Localizzazione geografica, ospite infettato, numero di casi (cumulativo) e mortalità nell'uomo delle 5 specie di EBOV e di MARV.

Specie	Paese	Ospite infettato	N. casi nell'uomo	Mortalità
BDBV	Repubblica Democratica del Congo, Uganda	Uomo, primati	185	25-36%
RESTV	Filippine	Primali, pipistrelli, maiale	13	0%
SUDV	Sudan, Uganda	Uomo, primati	779	36-100%
TAFV	Costa d'Avorio	Uomo	1	0%
ZEBOV	Congo, Gabon, Guinea, Liberia, Nigeria, Repubblica Democratica del Congo, Sierra Leone, Uganda	Uomo, primati, pipistrelli	30 101	47-100%
MARV	Angola, Repubblica Democratica del Congo, Sudafrica, Kenia, Uganda	Uomo, primati, pipistrelli	466	23-100%

molto difficile per l'aspecificità dei sintomi nei primissimi giorni di malattia e per la vasta gamma di cause responsabili di malattie febbrili nelle aree dove circola EBOV. Anche nel caso di un semplice sospetto è obbligatorio l'isolamento del paziente e la notifica alle autorità sanitarie. I campioni prelevati sono utilizzati per confermare l'infezione con test, che solitamente sono effettuati in laboratori di riferimento nazionali e internazionali. La manipolazione di **campioni biologici** da pazienti infetti deve essere infatti gestita in laboratori con livello di biosicurezza 3 o 4. Esistono pochi saggi commerciali disponibili per la diagnosi, anche se la recente epidemia di EBOV del 2013-2016 ha dato un notevole impulso allo sviluppo e alla commercializzazione di nuovi test. Nella fase prodromica della malattia, la conferma di laboratorio si può ottenere con l'identificazione del **genoma virale** mediante real-time RT-PCR, degli antigeni virali con metodi immunoenzimatici a cattura o con l'isolamento del virus attraverso l'inoculazione di sangue o secrezioni biologiche in colture cellulari (ad es. in cellule Vero). I **metodi molecolari** sono il gold standard per la diagnosi, sono disegnati su diverse regioni del genoma virale (NP, GP, VP40 e L), sono i più sensibili e specifici e possono essere effettuati anche in laboratori di biosicurezza 2 dopo l'estrazione del campione.

Il sangue è il campione d'elezione ma l'RNA di EBOV può essere rilevato in un ampio spettro di fluidi biologici (saliva, urina, seme, latte materno, sudore, lacrime). Nel sangue, l'RNA virale può essere individuato già a partire dal primo giorno di malattia (anche se una PCR negativa su un campione di sangue prelevato prima di 72 ore dall'inizio della malattia non esclude in modo assoluto l'infezione da EBOV) e raggiunge il picco entro 5-6 giorni, con livelli fino a 10^8 copie per mL nei casi fatali. L'antigene (più spesso è ricercato l'antigene VP40) appare nel sangue circa 3 giorni dopo l'inizio dei sintomi e aumenta in quantità fino alla morte o, nei casi non fatali, persiste per 7-16 giorni. In una fase più avanzata è possibile effettuare un'indagine sierologica per la ricerca degli anticorpi anti-virus più spesso utilizzando saggi immunoenzimatici. Gli anticorpi di tipo IgM compaiono entro una settimana dai sintomi, hanno un picco a 2-3 settimane e possono persistere per 60-80 giorni; le IgG si sviluppano fra il 6° e il 18° giorno e rimangono in circolo per anni. Talvolta può essere necessaria la diagnosi *post mortem* che prevede l'identificazione degli antigeni virali su biopsia cutanea e/o epatica con tecniche di immunoistochimica e/o immunofluorescenza. La microscopia elettronica, utile in passato, non è più usata a fini diagnostici.

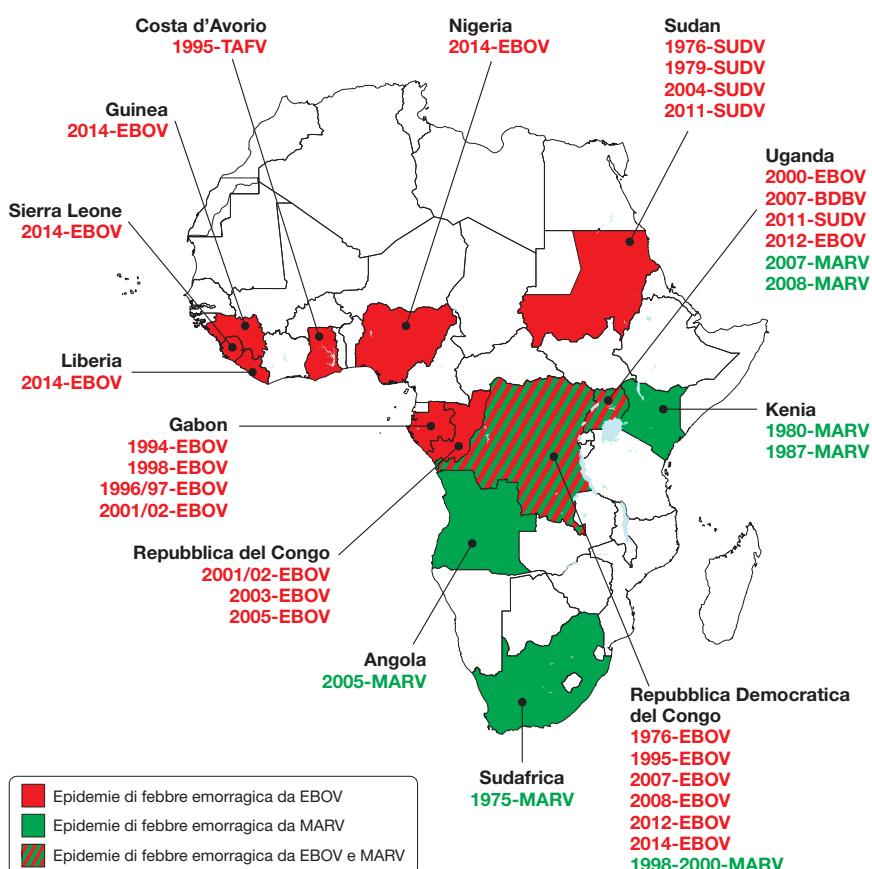
La **diagnosi differenziale** si pone sia con altre febbri emorragiche (febbre di Lassa, febbre di Marburg) che con altre patologie infettive (malaria, febbre tifoide, peste, borreliosi, melioidosi, tripanosomiasi africana, sepsi meningococcica, infezioni trasmesse da artropodi).

Epidemiologia – Controllo

La più ampia epidemia da EBOV è stata quella avvenuta nel 2013-2016 in alcuni Paesi dell'Africa Occidentale. Sviluppatosi nel piccolo villaggio di Meliandou, in Guinea, nel dicembre 2013, in pochi mesi il focolaio di febbre emorragica si è espanso a molti villaggi fino ad arrivare alle grandi città di Guinea, Sierra Leone, Liberia e Nigeria. Nell'epidemia che ne è seguita i casi confermati o sospettati di malattia da EBOV sono stati circa 29 000, con oltre 11 300 morti (40% il tasso di mortalità). Lo studio di questa epidemia ha grandemente contribuito a espandere le conoscenze sull'infezione da EBOV: fino ad allora infatti erano stati riportati soltanto 2400 casi riconosciuti in 24 focolai epidemici a partire dalla fine degli anni '70 (tab. 59.3, fig. 59.3).

L'ospite naturale del virus non è ancora noto con certezza, anche se si sa che EBOV persiste in uno o più animali che trasmettono l'infezione all'uomo direttamente o indirettamente attraverso l'amplificazione in ospiti intermedi. Il più accreditato serbatoio animale è il **pipistrello** che, senza sviluppare malattia, replica cronicamente il virus anche ad alto titolo. Sebbene la sorgente d'infezione nei primi episodi epidemici fosse

Figura 59.3 Casi di febbre emorragica in Africa dovuti a infezione da EBOV e/o MARV.



costituita da scimmie, è improbabile che esse rappresentino un ospite dove il virus persiste in natura. Infatti la maggior parte delle scimmie infettate sperimentalmente si ammala e muore. Più probabilmente esse agiscono come incubatori che amplificano il virus in natura; quindi un aumento inspiegabile di mortalità fra questi animali può rappresentare un campanello d'allarme di una possibile imminente trasmissione del virus all'uomo. Quattro specie di EBOV (ZEBOV, SUDV, TAFV e BDBV) circolano nelle aree tropicali dell'Africa e più spesso emergono durante la stagione delle piogge. RESTV è stato trovato in Asia, nelle Filippine, in primati e più recentemente in maiali.

Attualmente non ci sono vaccini autorizzati o farmaci da utilizzare per la terapia dei pazienti con infezione da EBOV. Tuttavia, anche alla luce della più recente epidemia, gli studi clinici per l'identificazione di presidi terapeutici sono stati implementati ed è possibile che a breve siano disponibili commercialmente sia farmaci specifici che vaccini.

59.3 - Virus di Marburg (MARV)

MARV è molto simile a EBOV, ma antigenicamente distinto. Piccole differenze fra i due filovirus esistono nell'organizzazione del genoma (una sola sovrapposizione fra geni in MARV, almeno due in EBOV; la regione non codificante che precede il gene VP30 più lunga in MARV), nella modalità di codifica della GP (da una singola ORF in MARV, da due in EBOV) e nell'espressione e funzione di alcune proteine minori (ad es. la sGP) (tab. 59.2). Modalità di replicazione e meccanismi patogenetici sono sovrapponibili (fig. 59.2).