

l'esecuzione delle analisi di laboratorio rappresentano solo una parte. L'indagine epidemiologica effettuata dagli organi di Sanità Pubblica mira a raccogliere elementi che aiutino ad arrivare alla conoscenza della causa (agente etiologico) che ha scatenato il fatto e delle motivazioni che l'hanno provocato.

I punti utili all'indagine si rifanno a una conoscenza dei microorganismi patogeni, del loro meccanismo d'azione, della loro patogenicità, etc. In apposite Tabelle, sottoposte ad aggiornamenti periodici, sono indicati: il tempo d'incubazione, i sintomi, le matrici alimentari preferibilmente contaminate ed i presunti agenti eziologici. Queste tabelle possono essere utili al Microbiologo per indirizzarlo verso il tipo di ricerca da effettuare. L'indagine epidemiologica inizia dopo la denuncia della malattia (obbligatoria per quasi tutte le malattie infettive), denuncia che spesso non viene effettuata proprio per la brevità, a volte, dell'episodio e dall'esito favorevole. Di qui la cospicua sottostima riportata da tutte le fonti epidemiologiche. Secondo dati dei CDC americani nel 2002 la maggioranza delle MTA sono state provocate da *Campylobacter*, *E. coli* (STEC) O157, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio*, *Yersinia enterocolitica*, *Staphylococcus aureus* e da protozoi come *Cryptosporidium parvum* e *Cyclospora cayatanensis*.

L'insorgenza di un episodio epidemico è solo la fase conclusiva e manifesta di un percorso che vede coinvolti oltre gli alimenti, la matrice vegetale o animale da cui derivano, il modo con cui vengono confezionati, conservati e trasportati e le caratteristiche dell'ambiente. Questi elementi compongono e definiscono il Ciclo Biologico che, con dovute variazioni si ripete per ogni agente eziologico in causa e la cui conoscenza è utile non solo per le pratiche di prevenzione e controllo alimentare, ma anche per indirizzare la ricerca del laboratorio di microbiologia.

Vengono riportati i cicli biologici degli agenti eziologici batterici più frequentemente causa di MTA nelle nostre zone, come *Salmonella* spp., *Escherichia coli* enteropatogeni, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Vibrio parahaemolyticus* e *Staphylococcus aureus*, oltre ad elminti parassiti come *Tenia* ed *Enterobius vermicularis*.

Nelle fasi conclusive vengono presentati gli Organismi e gli Enti che, nell'ultimo quarto di secolo, sono stati istituiti sorti per il controllo e monitoraggio continuo di queste affezioni: L'OMS e la FAO hanno creato nel 1963 il Codex Alimentarius allo scopo di sviluppare standards e linee guida orientate a proteggere la salute dei consumatori. Negli USA presso il CDC di Atlanta esiste il Food Net che è un forum di sorveglianza attiva per informare gli operatori dei casi confermati da tests di Laboratorio relativi agli episodi tossinfettivi. Osservatori epidemiologici si sono sviluppati in ogni Nazione come reti di flusso dati da Centri periferici a Centri di Eccellenza a loro volta collegati. Ricordiamo infine, perché ci riguarda più da

vicino, Il Sistema internazionale di sorveglianza di batteri enteropatogeni EnterNet che si dirama da Centri Nazionali, a strutture sovraregionali, regionali e periferiche per raccogliere dati microbiologici ed epidemiologici relativi ai principali enterobatteri patogeni.

CP.4

LA DIAGNOSTICA BATTERIOLOGICA

Nicoletti P.

A.O. Careggi, Lab. Microbiologia e Virologia, Firenze

Le infezioni gastroenteriche rappresentano la seconda causa di morbilità e mortalità nel mondo. Quelle batteriche possono essere sostenute da una grande varietà di agenti eziologici e pertanto possono porre complessi problemi diagnostici. Attualmente con le conoscenze acquisite sul ruolo svolto da molti microrganismi, in passato non conosciuti come enteritogeni, è possibile fare diagnosi in un numero di casi sensibilmente più elevato.

Il rischio di acquisire una forma gastroenterica varia con l'età, le condizioni di vita, le abitudini personali, fattori geografici ecc. Nella relazione sarà presa in considerazione la diagnosi batteriologica delle forme diarroiche più importanti nella nostra realtà epidemiologica come quelle più frequenti sostenute da *Salmonella* spp. e *Campylobacter* spp., quelle meno frequenti sostenute da *Shigella* spp. e *Yersinia* spp., quelle al momento più rare sostenute da *E. coli* (VTEC ecc.) ed infine anche quelle rarissime ed inusuali. Saranno anche presi in considerazione i problemi legati alla diagnostica in corso di eventi epidemici di tossinfezioni alimentari e la diagnostica batteriologica nelle forme diarroiche ospedaliere. Una corretta diagnostica batteriologica deve indirizzare le sue principali risorse in funzione dell'epidemiologia locale e della conoscenza dei principali e noti fattori di rischio presenti nei pazienti ambulatoriali ed in quelli ricoverati.

Anche se la diagnosi batteriologica può apparire di scarsa importanza per il singolo paziente, essendo la maggior parte dei casi sostenuti da forme autolimitanti che non necessitano di terapia antibiotica, l'esame delle feci, attraverso l'identificazione dell'agente patogeno, fornisce informazioni fondamentali per risalire alla fonte dell'infezione e quindi attuare misure appropriate per impedire il diffondersi o il ripetersi di eventi epidemici.

La mancata diagnosi batteriologica di una forma di diarrea può portare ad un ritardo nel trattamento o ad un inappropriato trattamento empirico. Per certi patogeni la terapia antimicrobica appropriata può portare alla riduzione dei giorni di malattia e può ridurre la mortalità nelle forme invasive. L'emergenza delle resi-

stenze ai farmaci antimicrobici, specialmente per certi batteri, ha ulteriormente evidenziato la necessità di una diagnosi batteriologica con l'isolamento dei microrganismi ed il saggio della loro sensibilità agli antibiotici. I dati sulle resistenze cumulati e divulgati serviranno così come guida alla scelta della terapia empirica "ragionata".

Anche la sola identificazione del microrganismo causa dell'infezione è oltremodo importante poiché costituisce di per sé la principale guida ad una terapia appropriata che eviti possibili complicanze: la probabilità di dare complicanze come la sindrome uremico-emolitica aumenta se si usano certi antibiotici nella terapia iniziale della diarrea da *E.coli* O157; usare antibiotici, quando e se non necessari, nella cura delle salmonellosi può portare a prolungamento dello stato di portatore o ad una più alta frequenza di ricadute; la terapia inappropriata con antibiotici può portare ad induzione di resistenze non solo nei patogeni causa di gastroenterite, ma anche in altre specie, vedi per esempio come l'uso della vancomicina nelle coliti associate ad antibiotici (diarree da *C.difficile*), porti a maggior colonizzazione e diffusione di enterococchi vancomicina-resistenti. Da questo deriva il fatto che una corretta diagnosi eziologia porta ad un uso più appropriato degli antibiotici a tutto vantaggio della salute del paziente unita anche ad una favorevole ricaduta economica. Anche un risultato negativo per la ricerca di batteri patogeni ha valore poiché indirizza verso la ricerca di altre cause sia infettive che non infettive ed anche in questo caso previene l'uso di farmaci non necessari.

Un aspetto particolare assume la diagnosi batteriologica di forme diarroiche che si presentano in ambiente ospedaliero. Nella maggior parte dei casi si tratta di colite associata ad antibiotici, ma non dobbiamo dimenticare la possibilità di forme diarroiche anche in forma epidemica (talora originate da mense ospedaliere) e che possono assumere aspetti molto gravi e particolarmente difficili da controllare specialmente in certi reparti più a rischio (vorrei solo ricordare a titolo di esempio episodi epidemici descritti prevalentemente "ma non solo" nei paesi in via di sviluppo e sostenuti da *Salmonella* spp., *E.coli* EPEC, ETEC e VTEC, *Shigella* spp. ecc.).

In questi casi una diagnosi batteriologica precoce ed un attento studio epidemiologico sono essenziali per bloccare e comunque limitare la diffusione dell'evento epidemico e questo deve farci anche riflettere sulla reale necessità o meno di applicare la famosa "regola del tre" nelle diarree nosocomiali.

Particolare importanza assume la diagnosi batteriologica quando si sospetti una tossinfezione alimentare: il laboratorio deve essere allertato e deve eseguire in tempi rapidi una ricerca ad ampio spettro (compatibile ovviamente con le caratteristiche cliniche degli episodi) in modo che gli organi preposti abbiano le informazioni necessarie per mettere in atto efficaci misure di controllo dell'epidemia stessa.

Nella diagnostica batteriologica, oltre all'isolamento del patogeno, assume particolare importanza epidemiologica l'approfondimento dell'esame mediante identificazioni sierologiche e, anche se in casi ben determinati, tipizzazioni biomolecolari. Nei casi per i quali è previsto, e limitato agli antibiotici appropriati, è importante concludere l'iter diagnostico con l'esecuzione dell'antibiogramma.

Le principali metodiche per una corretta diagnosi eziologica delle forme gastroenteriche di origine batterica sono tuttora quelle basate sulle tradizionali colture e ricerca di tossine; talora e per certi patogeni anche un esame batterioscopico può dare informazioni importanti considerando anche il fatto che il risultato è il più precoce che sia ottenibile in batteriologia.

I materiali nei quali più spesso può essere utile e necessario ricercare il patogeno responsabile di gastroenterite oltre alle feci sono il sangue (nelle forme sistemiche), e gli alimenti. L'iter diagnostico, dal prelievo all'esecuzione degli esami e la diagnostica mediante ricerca di tossine, sono oggetto di altre relazioni del corso stesso.

CP.5

LA DIAGNOSTICA MEDIANTE RICERCA DI TOSSINE

Dei R.

Dipartimento Sanità Pubblica - sezione Microbiologia, Università di Firenze

Buona parte delle gastro-enteriti infettive hanno una patogenesi esotossica; nella maggioranza dei casi la tossinogenicità non è una caratteristica specie-specifica, per cui un riconoscimento che arrivi solo alla specie deve essere ritenuto del tutto inadeguato. L'approccio diagnostico classico comporta l'isolamento ed identificazione del germe, che con la eventuale valutazione di marcatori di patogenicità o sfruttando la associazione con certi tipi sierologici può dare una indicazione sulla patogenicità dell'agente.

La tossinogenicità può venire determinata fenotipicamente tramite metodi biologici o immunologici, oppure genotipicamente andando a valutare la presenza dei determinanti genici.

Il metodo biologico classico di ricerca di tossine su animali è stato sostituito dall'impiego di colture cellulari, dove l'effetto caratteristico, eventualmente unito alla neutralizzazione con antitossina specifica identifica la presenza di tossina; tale saggio è generalmente ritenuto il test di riferimento. Ma in linea di massima l'impiego di colture cellulari è difficilmente proponibile nei laboratori diagnostici, specialmente di batteriologia, che invece fanno sempre più uso di test immunologici, largamente disponibili commercial-