

Università Politecnica delle Marche
Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente
Corso di Laurea in Scienze Biologiche

**BATTERI PATOGENI
EMERGENTI: UNO SGUARDO
AL PASSATO E AL FUTURO**

**EMERGING BACTERIAL
PATHOGENS: THE PAST AND
BEYOND**

Relatore: Prof.ssa Eleonora Giovanetti
Tesi di Laurea di: Aurora Domogrossi



Sessione Autunnale
Anno Accademico 2020-2021

Nel corso della storia, l'umanità ha dovuto fronteggiare moltissime emergenze sanitarie causate da malattie infettive che si sono rapidamente diffuse nella popolazione provocando innumerevoli decessi. Basti pensare all'epidemia di peste nera che investì e devastò l'Europa del Trecento e che continuò a colpire periodicamente diversi territori anche nei secoli successivi. Un tempo le uniche strategie per contrastare il dilagare di queste malattie erano rappresentate dalla prevenzione e dall'isolamento. A questo proposito fondamentali furono i lazzaretti costruiti per garantire la quarantena dei malati e dei casi sospetti.

Con la scoperta della penicillina da parte di Alexander Fleming nel 1928 e i progressi scientifici del XX secolo, si è diffuso un grande ottimismo circa la possibilità di controllare l'insorgenza delle malattie infettive.

La diffusione di malattie infettive emergenti e riemergenti all'inizio del XXI secolo costituisce un grave problema.

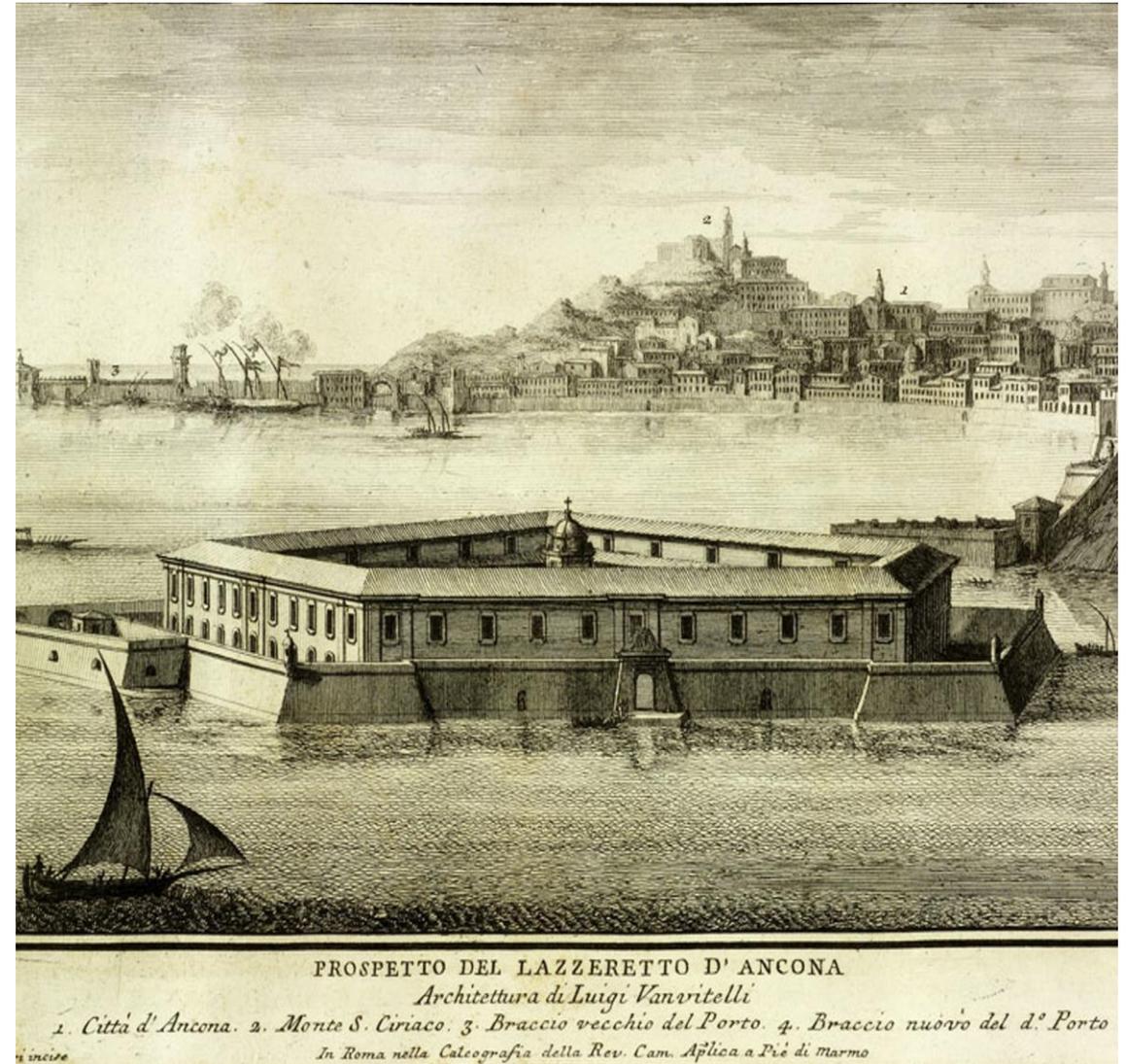


TABLE I. Major emerging bacterial pathogens of the last 50 years

| Year | Bacterial species | Diseases | Comments | Transmission | Antibiotic treatment ^a | References |
|-------|--|---|---|---|--|---------------|
| 1973 | <i>Campylobacter</i> spp. | Diarrhea | | Zoonosis (poultry, cattle, uncooked meat, unpasteurized milk) | Unnecessary in most cases (macrolides, quinolones) | [17,74] |
| 1974 | <i>Clostridium difficile</i> | Pseudo-membrane colitis; toxic megacolon | Commonly associated with antibiotic use | Part of normal flora | Vancomycin | [75,76] |
| 1974 | <i>Streptococcus bovis</i> group | Endocarditis | Commonly associated with adenocarcinoma of colon and chronic liver diseases | Part of normal flora and/or zoonosis (contaminated food) | β-Lactam | [77–79] |
| 1976 | <i>Legionella pneumophila</i> | Lung infection | | Amoebae in water | Azithromycin, respiratory quinolones | [80,81] |
| 1976 | <i>Capnocytophaga canimorsus</i> | Sepsis | In asplenic patients, hepatic diseases, alcohol abuse | Zoonosis (dogs) | β-Lactam–β-lactamase combinations, cephalosporin, carbapenem | [82] |
| 1981 | <i>Staphylococcus aureus</i> toxin | Toxic shock syndrome | Associated with tampon use | Skin and mucous membrane colonization | Vancomycin + clindamycin | [83] |
| 1982 | <i>Escherichia coli</i> O157:H7 | Hemorrhagic colitis, hemolytic uremic syndrome | Known as 'hamburger disease' | Zoonosis (contaminated food) | Not required | [84] |
| 1982 | <i>Borrelia burgdorferi</i> | Lyme disease | | Zoonosis (Ticks) | Doxycycline, amoxicillin | [85] |
| 1983 | <i>Chlamydia pneumoniae</i> | Lung infection | First isolated in 1965 in context of trachoma vaccine trial in eye | Person to person | Macrolides, doxycycline | [86] |
| 1983 | <i>Helicobacter pylori</i> | Gastric ulcers | Associated with higher risk of gastric adenocarcinoma and lymphoma | Person to person | PPI + clarithromycin + amoxicillin/ metronidazole | [16] |
| 1986 | <i>Rhodococcus equi</i> | Pneumonia in immunosuppressed | | Zoonosis (herbivores, especially horses) | Multidrug therapy due to resistance | [87] |
| 1987 | <i>Ehrlichia chaffeensis</i> | Human ehrlichiosis | | Zoonosis (ticks) | Doxycycline | [32,67] |
| 1990s | Non-diphtheria <i>Corynebacterium</i> spp. | Endocarditis in immunosuppressed, patients with underlying valve disease or prosthetic valve; other invasive infections | Most important: <i>C. amycolatum</i> , initially confounded as <i>C. xerosis</i> , <i>C. striatum</i> | Part of normal flora | β-Lactam + glycopeptides; if resistant, vancomycin | [57,58,87–90] |
| 1990s | Spotted fever group <i>Rickettsia</i> spp. | Spotted fever rickettsiosis | Notably <i>R. africae</i> , <i>R. helveticae</i> , <i>R. slovaca</i> , <i>R. mongolotimonae</i> | Zoonosis (ticks) | Doxycycline | [8,9,91–93] |
| 1990 | <i>Anaplasma phagocytophilum</i> | Human granulocytic anaplasmosis | Previously thought to be <i>Ehrlichia</i> spp. | Zoonosis (ticks) | Doxycycline | [94,95] |
| 1991 | <i>Tropheryma whipplei</i> | Whipple disease | | ? | Ceftriaxone followed by trimethoprim–sulfamethoxazole | [30,31] |
| 1992 | <i>Vibrio cholerae</i> O139 | Diarrhoea | | Contaminated water | Not required | [96] |
| 1992 | <i>Bartonella henselae</i> | Cat-scratch disease, bacillary angiomatosis | Initially named <i>Rochalimaea</i> | Zoonosis (cats) | Generally not required in immunocompetent patients | [97,98] |
| 1992 | <i>Aerococcus</i> spp. | UTI, endocarditis | Mainly <i>A. urinae</i> and <i>A. sanguinicola</i> ; especially in elderly or patients predisposing factors such as diabetes, urinary catheters | Part of the normal flora (?), person-to-person transmission | β-Lactam, glycopeptides, | [99,100] |
| 1995 | <i>Wolbachia</i> spp. | Associated with onchocerciasis and lymphatic filariasis | Indirectly acts as endosymbionts of filarial nematodes, increasing their pathogenicity | Filarial nematodes | Doxycycline with or without antifilarial treatment | [101–103] |
| 1997 | <i>Simkania negevensis</i> | Lung infection | | ? | Macrolides, doxycycline | [104] |
| 1997 | <i>Actinobaculum schaalii</i> | UTI | First considered as a contaminant; especially in elderly or patients with predisposing factors such as diabetes, urinary catheters | ? | β-Lactam, glycopeptides, | [105] |
| 1997 | <i>Parachlamydia acanthamoebae</i> | Lung infection | Isolated from water of humidifier involved in epidemic of fever in Vermont | Amoebae in water (?) | Macrolides, doxycycline | [106] |
| 2007 | <i>Waddlia chondrophila</i> | Miscarriages | | ? | Macrolides, doxycycline | [107] |
| 2007 | <i>Alloscardovia omnicolens</i> | UTI | Especially in elderly or patients with predisposing factors such as diabetes, urinary catheters | ? | β-Lactam, cotrimoxazole, glycopeptides, fluoroquinolones | [108] |
| 2010 | <i>Neoehrlichia mikurensis</i> | Neoehrlichiosis: systemic inflammatory response; vascular and thromboembolic events | More frequent among immunocompromised patients | Zoonosis (ticks) | Doxycycline | [109–111] |

PPI, proton pump inhibitor; UTI, urinary tract infection.

^aSuggested as examples of commonly used antimicrobial therapy. It should be adapted to local guidelines and resistance.

Perché i batteri patogeni continuano ad emergere?

Spesso, le malattie infettive emergenti e riemergenti sono sostenute da batteri che sono in realtà presenti nel nostro ambiente da molto tempo ma ai quali siamo stati esposti solo di recente o che non abbiamo identificato fino ad ora. Per comprendere le dinamiche d'insorgenza di queste infezioni dobbiamo esaminare 3 aspetti:

- 1) ottimizzazione dei tradizionali terreni di coltura, sviluppo di nuove tecniche molecolari e di strumenti diagnostici più accurati;
 - 2) maggiore esposizione dell'uomo ai patogeni batterici a causa di cambiamenti sociali ed ecologici;
 - 3) comparsa di ceppi batterici più virulenti e diffusione di infezioni opportunistiche soprattutto negli immunocompromessi.
-

Colture e tecniche molecolari

Il perfezionamento dei tradizionali terreni di coltura e l'ottimizzazione delle condizioni di incubazione hanno certamente ampliato la possibilità di isolare batteri e di scoprire nuovi patogeni.

Molti batteri scoperti recentemente sono patogeni intracellulari obbligati e richiedono colture cellulari.

Altri substrati biotici sono rappresentati dalle amebe e dalle colture di cellule di insetto.

Negli ultimi anni, l'introduzione nei laboratori delle tecniche di biologia molecolare nell'identificazione batterica ha rivoluzionato la diagnostica microbiologica consentendo di superare le limitazioni dovute all'utilizzo di terreni non adatti all'isolamento e all'identificazione di specie microbiche particolarmente esigenti.

La PCR, tecnica largamente usata nei laboratori di microbiologia, consente una rapida ed affidabile caratterizzazione dei patogeni in base alla ricerca di una sequenza altamente conservata codificante per l'rRNA 16S. La PCR è particolarmente utile nell'analisi di campioni normalmente sterili come il sangue, dove possono instaurarsi batteriemie. La PCR risulta meno utile su campioni contaminati dal microbiota (espettorato, feci).

Alla PCR si sono poi aggiunte altre tecnologie quali il sequenziamento di nuova generazione (NGS) e la spettrometria di massa.

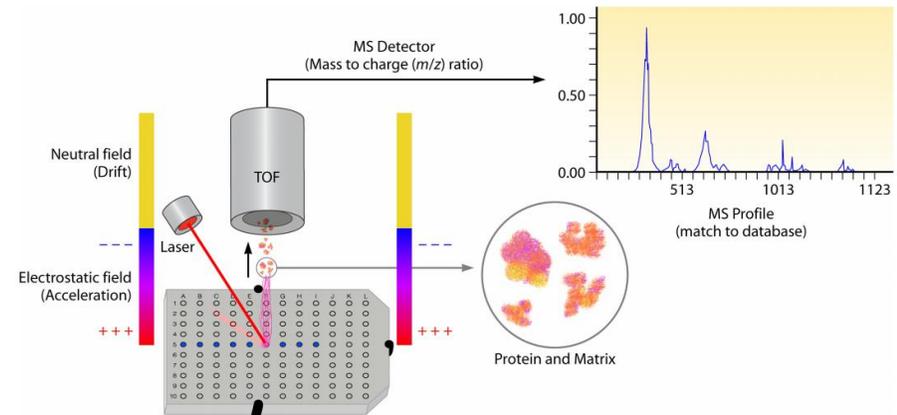
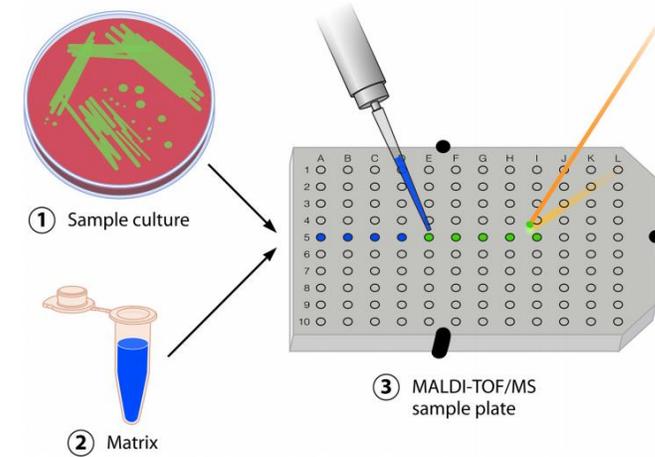
Spettrometria di massa

La matrice viene bombardata con un fascio di luce laser. Il risultato è la disaggregazione e la ionizzazione della matrice e del campione.

Gli ioni vengono separati da un tubo in base al loro rapporto massa-carica.

Viene quindi generato uno spettro di massa che viene poi confrontato con spettri di riferimento in modo da identificare i batteri contenuti nel campione iniziale.

[Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight Mass Spectrometry: a Fundamental Shift in the Routine Practice of Clinical Microbiology \(nih.gov\)](#)



Maggiore esposizione ad agenti patogeni

Il nostro ambiente rappresenta un serbatoio indefinito di specie batteriche, alcune delle quali sono potenzialmente patogene per l'uomo. La maggior parte delle patologie emergenti e riemergenti è rappresentata da zoonosi. Sebbene non figurino tra le principali cause di morte, queste malattie sono oggi considerate tra le maggiori minacce di nuove e pericolose pandemie. Gli agenti zoonotici sono trasmessi all'uomo direttamente o indirettamente attraverso morsi, graffi, artropodi vettori, cibo, acqua e ambienti contaminati. Inoltre, molti batteri potenzialmente patogeni fanno parte della flora microbica normale dell'uomo. I cambiamenti sociali ed ecologici del secolo scorso hanno alterato l'equilibrio uomo-batteri-ambiente e incrementato il rischio di esposizione ad agenti patogeni.

Il successo di nuove malattie infettive implica una rapida diffusione delle infezioni nella popolazione. Pertanto, l'incremento di densità di popolazione rappresenta uno dei più importanti fattori in grado di favorire il loro diffondersi. Ruolo di primo piano è svolto anche dalla globalizzazione; in modo particolare gli spostamenti e il commercio hanno favorito la diffusione dei patogeni in nuove aree sia mediante individui o animali infetti che attraverso navi mercantili e aerei. Anche le attività ricreative all'aperto, oggi molto praticate, mettono la popolazione a rischio di contrarre infezioni veicolate da artropodi. Inoltre, gli animali domestici ma soprattutto rettili e pesci esotici costituiscono un ulteriore serbatoio di infezione. La cattiva manutenzione di climatizzatori e di umidificatori aumenta il rischio di sviluppare infezioni dovute a patogeni respiratori.

I cambiamenti climatici di origine antropica hanno una grande influenza sul funzionamento degli ecosistemi e possono contribuire alla diffusione di nuovi patogeni e allo sviluppo di epidemie. Le temperature invernali sempre più miti favoriscono un aumento numerico dei roditori con conseguenti rischi per l'uomo. L'alterazione degli habitat naturali ad opera dell'uomo ha aumentato la frequenza con cui nei patogeni si verifica il salto di specie fino ad infettare gli esseri umani. Fattori di stress antropogenici hanno profondamente modificato gli ecosistemi e i loro rapporti con l'uomo.

Comparsa di ceppi più virulenti e di infezioni opportunistiche

Nell'ambito delle malattie infettive emergenti, uno dei problemi principali è rappresentato dallo sviluppo di antibiotico-resistenze in importanti patogeni quali *Staphylococcus aureus*. In seguito alla loro rapida diffusione, sia in ambito ospedaliero che comunitario, questi patogeni vengono considerati emergenti e richiedono particolare attenzione.

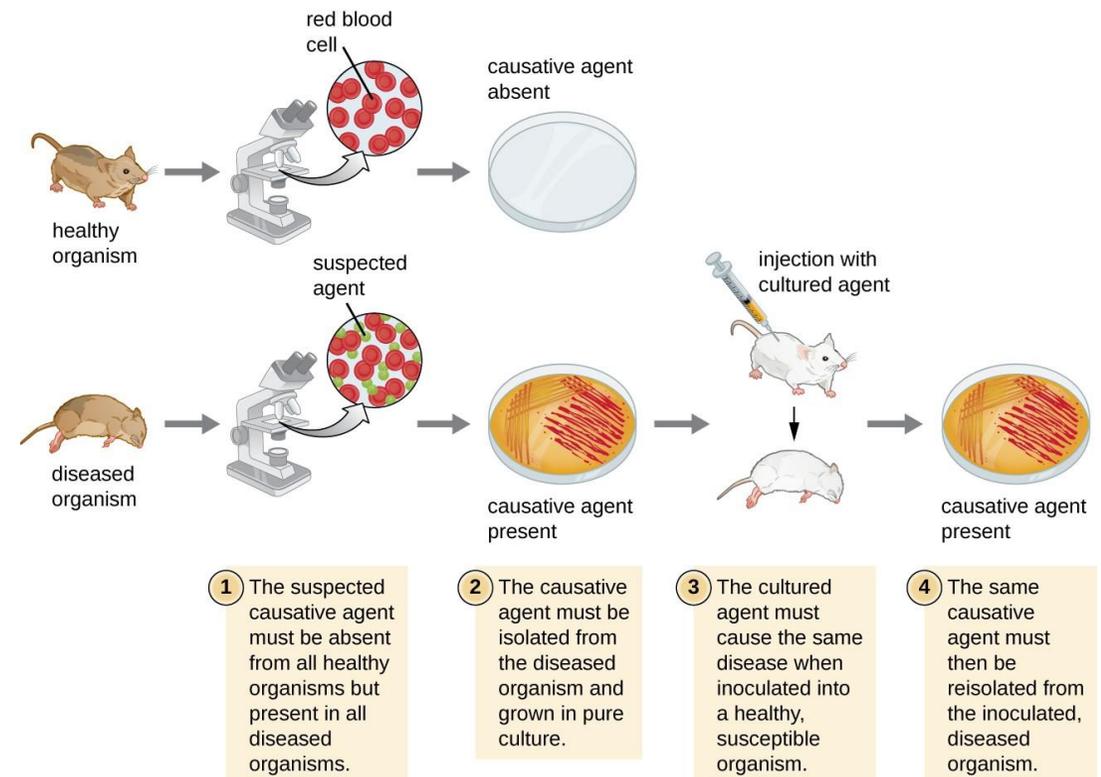
Negli ultimi 30 anni si è assistito a un progressivo aumento di pazienti immunocompromessi. In questi soggetti, le infezioni sono sostenute da microrganismi commensali o scarsamente patogeni per un soggetto immunocompetente. I recenti progressi medici, in grado di ridurre mortalità e morbilità, hanno sicuramente contribuito a questo fenomeno così come il progressivo invecchiamento della popolazione, l'aumento dei nati prematuri, l'epidemia di HIV e l'uso della terapia immunosoppressiva nella gestione delle malattie autoimmuni.

«Nuovo» non significa patogeno

I recenti progressi nella diagnostica microbiologica hanno ampliato il numero di procarioti identificabili, rendendo più sfumata la distinzione tra patogeni veri e non-patogeni. Storicamente, la conferma del ruolo patogeno di un microorganismo richiedeva il rispetto di 4 criteri stabiliti da Koch.

I postulati di Koch sono validi anche oggi ma hanno evidenti limiti. Per esempio, alcuni microbi hanno peculiari requisiti culturali. Inoltre, alcune malattie infettive non sono semplici da diagnosticare e possono essere causate da diversi patogeni che provocano tutti gli stessi sintomi. Alcuni patogeni possono inoltre causare più di una malattia. Per questo alcuni autori hanno proposto altri criteri.

Le tecniche molecolari hanno rivoluzionato l'identificazione dei patogeni, tuttavia si tratta di tecniche altamente sensibili e quindi soggette facilmente a contaminazione. Dunque, i tradizionali metodi di coltura per l'identificazione dei batteri rappresentano ancora oggi un aspetto cruciale nella diagnostica microbiologica.



Riassunto

Nel corso della storia abbiamo affrontato numerose emergenze sanitarie dovute a malattie che si sono rapidamente diffuse nella popolazione e che hanno causato molte vittime: dalla peste nera del Trecento alle nuove infezioni emergenti e riemergenti dei giorni nostri. Le malattie infettive emergenti sono infezioni che appaiono nella popolazione per la prima volta e che non erano note prima della loro comparsa mentre le malattie infettive riemergenti sono infezioni di cui si è già avuta esperienza in passato e che, a distanza di tempo, riemergono in una forma più virulenta o con una maggiore incidenza. Oggi, i batteri patogeni emergenti e riemergenti rappresentano una delle principali minacce per la salute pubblica. Queste infezioni sono sostenute da batteri che sono in realtà presenti nel nostro ambiente da molto tempo, ma ai quali siamo stati esposti solo di recente o che non abbiamo identificato fino ad ora. Nella maggior parte dei casi, si tratta di zoonosi o di infezioni acquisite da sorgenti idriche e ambienti contaminati. In questo studio sono state analizzate le dinamiche d'insorgenza di queste malattie. In particolare, gli straordinari progressi della diagnostica, grazie allo sviluppo di idonei terreni di coltura anche per le specie più esigenti e all'introduzione nei laboratori microbiologici di tecniche molecolari (PCR, spettrometria di massa, metodi di sequenziamento di nuova generazione), hanno ampliato la possibilità di isolare i batteri e di scoprire nuovi patogeni. Inoltre, i cambiamenti ambientali e sociodemografici del secolo scorso hanno modificato l'equilibrio uomo-batteri-ambiente aumentando il rischio di esposizione ai patogeni. Fattori come l'incremento della densità di popolazione, la globalizzazione, lo svolgimento delle attività ricreative all'aperto, gli animali domestici (in particolare, pesci esotici e rettili) e la scarsa manutenzione dei sistemi di climatizzazione e umidificazione giocano un ruolo molto importante nell'aumentare il rischio di sviluppare infezioni sostenute da patogeni batterici. Ulteriori problemi sono rappresentati dallo sviluppo delle resistenze agli antibiotici, dalla comparsa di ceppi batterici più virulenti e dalla diffusione di infezioni opportunistiche soprattutto tra le popolazioni immunocompromesse. In futuro sarà fondamentale stanziare risorse finanziarie per raccogliere dati a livello globale indispensabili per comprendere l'impatto clinico di queste malattie infettive emergenti e riemergenti.



Sitografia

- Emerging bacterial pathogens: the past and beyond (nih.gov)
 - Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight Mass Spectrometry: a Fundamental Shift in the Routine Practice of Clinical Microbiology (nih.gov)
-