

Infezioni da micobatteri dal punto di vista di un laboratorio di microbiologia

Raffaele Peduzzi, Verena Michelini, Elena Pagano

L'Istituto cantonale di microbiologia (ICM) quale servizio di sorveglianza epidemiologica del Canton Ticino (Svizzera) documenta, tra l'altro, i casi di tubercolosi e di micobatteriosi.

La presente valutazione, concerne le analisi eseguite negli ultimi 26 anni (1978-2003) e riguarda 1160 stipti di primo isolamento reperiti in 76'136 campioni clinici.

Malgrado la diminuzione constatata dall'inizio del XX secolo in tutti i paesi europei, la tubercolosi resta una malattia che necessita una sorveglianza assidua a causa dei movimenti migratori dai paesi di forte endemia e del rischio di farmacoresistenza. L'andamento dell'infezione in una data comunità dipende fortemente dalla situazione socio economica (alimentazione, habitat), dal sistema sanitario (diagnosi tempestiva e trattamento completo, controllo dei contatti,) e dalla presenza di persone particolarmente ricettive (persone immunocompromesse, anziani).

La comparsa dell'HIV, ha scombussolato anche il mondo dei micobatteri facendo riapparire lo spauracchio della tubercolosi e dando un'importanza nuova alle micobatteriosi atipiche considerate fino agli anni 1980 poco rilevanti dal punto di vista clinico.

La famiglia delle *Mycobacteriaceae* comprende il genere *Mycobacterium*. Si tratta di germi ubiquitari presenti negli esseri viventi (animali a sangue caldo o freddo) e nell'ambiente (terreno, acqua, aria). La loro parete è ricca in acidi grassi, ciò che li rende tassonomicamente unici e conferisce loro caratteristiche particolari: poco sensibili a sostanze acide, alcaline o alcoliche, poco visibili con le comuni tecniche di colorazione, crescita lenta che necessita di terreni particolari, poco influenzati dai comuni antibiotici.

Delle oltre 100 specie identificate, alcune sono patogene obbligate, altre rivestono un carattere opportunisto, altre ancora interessano unicamente l'ambiente. Per quel che concerne l'effetto sull'uomo si distinguono nel complesso dei micobatteri tubercolari (MT) cui appartengono *M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. bovis*, *M. canettii*, *M. cicroti* e nel gruppo dei cosiddetti atipici o micobatteri non tubercolari (MNT, MOTT in inglese) che com-

porta germi animali o ambientali a patogenicità occasionale. Il riscontro di MNT nei campioni clinici necessita una valutazione accurata per distinguere tra contaminazione, colonizzazione o malattia invasiva. In genere, i MNT non si trasmettono da uomo a uomo e causano un'infezione severa solo in presenza di un'immunodeficienza profonda.

Va rilevato che le infezioni da MT sono soggette a dichiarazione obbligatoria in tutti i paesi. Si dispone dunque di statistiche che permettono di comparare regioni e periodi di tempo. Per i bacilli del secondo gruppo, poco interessanti per la salute pubblica, in generale non si raccolgono dati esaustivi, si ricorre piuttosto a studi puntuali in gruppi a rischio.

Il ceppo BCG utilizzato per il vaccino è un derivato artificiale di *M. bovis*. Quanto a *M. leprae* si distingue per essere strettamente legato all'uomo, non coltivabile in vitro e per la contagiosità limitata. *M. microti* et *M. canettii*, speci rare e di difficile identificazione sono anch'essi classificati tra i micobatteri tubercolari [1].

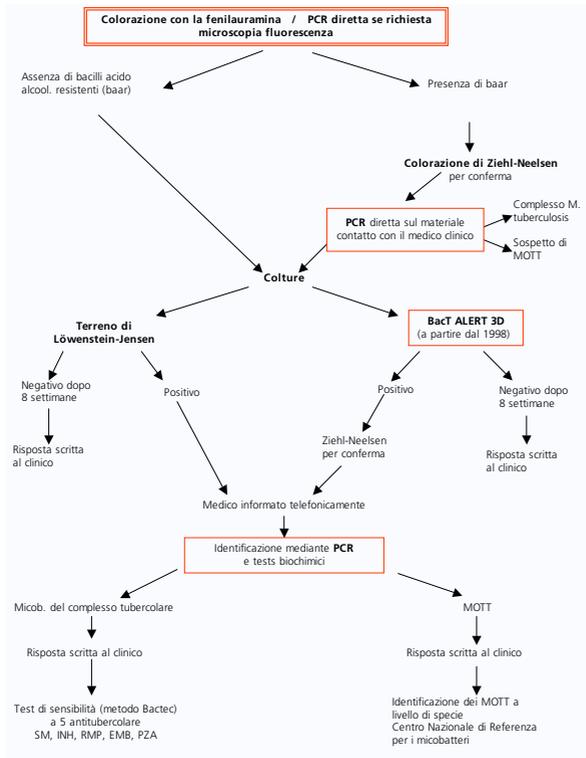
MATERIALI E METODI

I dati sono stati raccolti in maniera prospettiva e analizzati con Epiinfo 6. Le informazioni concernenti il paziente provengono dal formulario di richiesta d'analisi e in alcuni casi dal medico curante.

La [figura 1](#) riassume il protocollo attualmente utilizzato all'ICM. Per quel che concerne l'evoluzione del procedimento analitico, gli unici cambiamenti di rilievo sono stati l'introduzione del sistema Bactec 460TB nel 1990, la sua sostituzione con BacT ALERT 3D nel 1998 e la messa a punto della PCR nel 1999.

L'esame diretto dell'espettorato mantiene il suo valore per la rapidità e per la valutazione della contagiosità (vedi tabella 2). Malgrado l'automatizzazione, le colture tradizionali su Löwenstein-Jensen sono state mantenute. Tutti i MNT così come i ceppi MT anomali sono inviati al Laboratorio Nazionale di Riferimento a Zurigo per tipizzazione e controlli supplementari.

Figura 1: Procedura d'analisi per la ricerca di micobatteri nei campioni clinici



RISULTATI MICROBIOLOGICI

Dal 1978 al 2003, il servizio di micobatteriologia dell'ICM ha analizzato 76'136 campioni clinici ciò che ha permesso di isolare 1'160 stipiti, 913 del complesso tubercolare (MT) e 247 micobatteri "atipici" (MNT).

Il numero di nuovi casi varia da un minimo di 26 (1988) ad un massimo di 66 (1992), la media si situa a 44 - 45 casi all'anno. Negli ultimi anni si nota una diminuzione dei batteri MT parzialmente compensata da un aumento dei MNT, nell'insieme la curva ha un andamento ondulatorio (figura 2).

La tabella 1 illustra i risultati della tipizzazione. Nel gruppo dei MT sono stati identificati 888 ceppi di *M. tuberculosis* (97,3%), 16 di *M. bovis*, 5 di *M. africanum* e 4 d'origine vaccinale (BCG). Nel gruppo dei MNT, i 230 ceppi identificati appartenevano a 16 differenti specie, gli altri 17 non hanno potuto essere classificati. Il complesso *M. avium-intracellulare* è

Figura 2: Micobatteri di primoisolamento ICB, 1978 - 2003 (1'160 ceppi)

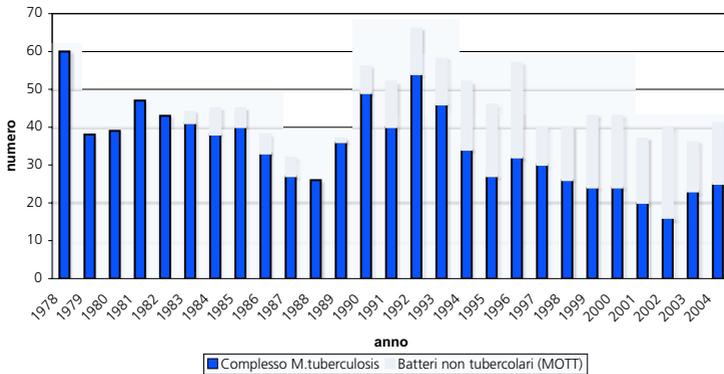


Tabella 1: Micobatteri di primoisolamento 1978 - 2003

Micobatteri tubercolari			Micobatteri non tubercolari		
	N°	%		N°	%
<i>M. tuberculosis</i>	888	97.3	<i>Compl. avium-intracellulare</i>	77	31.2
<i>M. bovis</i>	16	1.8	<i>M. gordonae</i>	48	19.4
<i>M. africanum</i>	5	0.5	<i>M. xenopi</i>	40	16.2
<i>M. bovis-BCG</i>	4	0.4	<i>M. terrae</i>	13	5.3
			<i>M. fortuitum</i>	12	4.9
			<i>M. malmoense</i>	10	4.0
			<i>M. kansasii</i>	8	3.2
			<i>M. chelonae</i>	5	2.0
			<i>M. nonchromogenicum</i>	5	2.0
			<i>M. simiae</i>	3	1.2
			Altri *	9	3.6
			non identificati	17	6.9
totale	913	100.0	totale	247	100.0

* Altri

2 ceppi: *M. marinum*, *M. scrofulaceum*, *M. celatum*

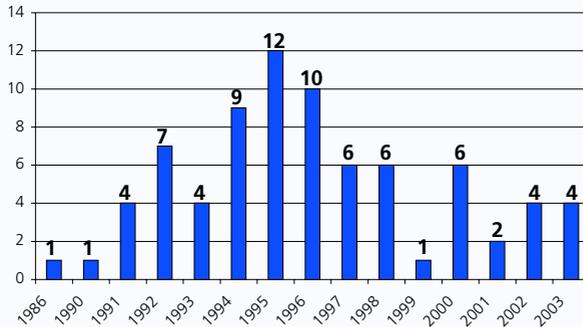
1 ceppo: *M. branderi*, *M. flavescens*, *M. interjectum*

stato reperito 77 volte (31,2% dei MNT), la sua importanza nel corso del tempo appare nella [figura 3](#).

In 6 pazienti sono stati riscontrati 2 differenti tipi di micobatteri: 1 caso con *M. xenopi* e *M. kansasii* e 5 casi di *M. tuberculosis* associato ad un'altra specie. Tre pazienti hanno presentato infezioni con stipiti diversi nello spazio di mesi o di anni.

I prelievi che hanno portato alla diagnosi sono così ripartiti: 51% espettorati, 19% aspirati e lavaggi bronco-alveolari, 7% urine, 7% succo gastrico, 5% biopsie, 5% pus, 3% punzioni pleuriche, 1% sangue, 1% feci, 0,5% liquido cefalorachidiano. Il materiale di origine polmonare (espetto-

Figura 3: Complesso *M. avium-intracellulare* (numero di casi annui)



rati, secrezioni bronchiali, prelievi pleurici e gastrici) rappresenta circa l'80% dei campioni sia per i MT che per i MNT.

Nel liquido cefalorachidiano si è trovato solo *M. tuberculosis*. Nel sangue sono stati riscontrati soprattutto dei MNT (12 casi su 14 prelievi, di cui 10 dovuti a *M. avium-intracellulare*), come pure nelle feci (7 su 10).

L'esame microscopico diretto è risultato positivo per 57% dei prelievi con MT, ma solo nel 10% dei casi di MNT. In 2,6% degli esami non c'è stata una conferma per coltura (nessuna crescita o decesso del paziente prima della messa in coltura).

Per quel che concerne i 460 espettorati con micobatteri tubercolari, 68% erano positivi all'esame diretto (tabella 2).

L'antibiogramma interessa solo i bacilli del complesso *M. tuberculosis*: 86% degli stipti sono risultati sensibili a tutti gli antitubercolari saggiati, 9% resistenti a un farmaco, 4% resistenti a 2 e 0,5% resistenti a 3 o più farmaci (a causa della resistenza naturale, è stata esclusa la pirazinamide dai test di

Tabella 2: Esame microscopico diretto dell'espettorato

Classe *		MT	MNT
negativo	0	147 (32%)	120 (93%)
<10 baar**/100 campi	+	71	3
1-10 baar**/10 campi	++	47	2
1-10 baar**/campo	+++	68	2
10-100 baar**/campo	++++	73	2
>100 baar**/campo	+++++	54	0
		460	129

* Classificazione secondo Le Minor e M. Véron

** baar = bacilli alcool-acido resistenti

MT = micobatteri tubercolari

MNT = micobatteri non tubercolari

M. bovis e *M. bovis-BCG*). I risultati per le singole sostanze e per l'associazione isoniazide-rifampicina sono illustrati nella tabella 3. Non si nota una tendenza chiara, gli isolati a sensibilità ridotta o totalmente resistenti sono infatti distribuiti in modo sporadico su tutto il periodo considerato.

Profilo dei pazienti colpiti da tubercolosi

I dati demografici a nostra disposizione sono riassunti nella tabella 4. Per dare un'idea dell'evoluzione abbiamo analizzato separatamente il primo e l'ultimo decennio. Il sesso maschile é il piú presente, sia complessivamente (62%), sia nei diversi sottogruppi. L'età mediana si situa a 51 anni nel collettivo totale, a 64 per i pazienti d'origine svizzera e a 36 per gli stranieri. Comparando il primo e l'ultimo periodo, si nota che al momento

Tabella 3: Sensibilità del Complesso *M. tuberculosis*

	Ceppi analizzati	Ceppi sensibili
<i>Isoniazide</i>	868	92%
<i>Streptomicina</i>	868	93%
<i>Etambutolo</i>	868	99%
<i>Rifampicina</i>	842	98%
<i>Pirazinamide</i>	478	99%
<i>Isoniacida + Rifampicina</i>	842	91%

Tabella 4: Caratteristiche dei pazienti colpiti da tubercolosi

	<i>Primo periodo 1978-1987</i>	<i>Ultimo periodo 1994-2003</i>	<i>Totale 26 anni 1978-2003</i>
Totale nuovi casi	406	256	913
<i>Uomini / Donne</i>	241 (59%) / 165	152 (59%) / 104	566 (62%) / 347
<i>Età (mediana, limiti)</i>	54 anni, 0-98	49 anni, 1-95	51 anni, 0-98
<i>Svizzeri / Stranieri / Sconosciuti</i>	260 / 135 / 11	122 / 134 / 0	508 / 394 / 11
Pazienti svizzeri	260 (66%)	122 (48%)	508 (56%)
<i>Uomini / Donne</i>	153 (59%) / 107	69 (57%) / 53	310 (61%) / 198
<i>Età mediana</i>	61 anni	66 anni	64 anni
Pazienti stranieri	135 (34%)	134 (52%)	394 (44%)
<i>Uomini / Donne</i>	82 (61%) / 53	83 (62%) / 51	250 (63%) / 144
<i>Età mediana</i>	41 anni	33 anni	36 anni
<i>Origine: Europa</i>	122	84	307
<i>Africa</i>	1	24	33
<i>Americhe</i>	5	16	29
<i>Asia</i>	3	10	20
<i>sconosciuta</i>	4	0	5

della diagnosi gli Svizzeri sono sempre più anziani e gli stranieri sempre più giovani. Complessivamente, gli indigeni rappresentano il 56% dei pazienti da noi diagnosticati, va però notato che la proporzione era di 66% nel primo decennio ed è scesa a 48% nell'ultimo. La [figura 4](#) presenta la distribuzione dell'età nei due gruppi, per il periodo 1994-2003.

Tra gli stranieri, si nota una diminuzione degli europei (da 90% a 62%) ed un aumento dei pazienti provenienti dagli altri continenti, soprattutto da quello africano (da 0,7% a 18%). Il gruppo più consistente è rappresentato dagli Italiani, il cui numero però continua a decrescere ed è passato da 78 (19% del totale) nel primo decennio a 26 (10%) nell'ultimo.

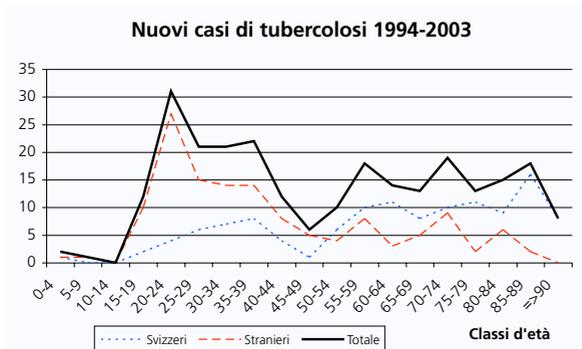
L'ultima infezione da *M. bovis* è stata constatata nel 1998, la frequenza massima è stata di 3 casi nel 1983. Su 16 pazienti, 14 erano indigeni d'età compresa tra i 45 e i 90 anni, uno proveniva dalla Germania ed il più giovane dalla Spagna (paziente di 30 anni).

M. africanum è stato isolato in soggetti relativamente giovani (16 - 39 anni), 1 d'origine svizzera, 1 d'origine italiana e 3 provenienti dall'Africa.

Dei 913 casi di tubercolosi da noi identificati, 83 (9%) presentavano una storia di pregressa tubercolosi, 478 (52%) avevano un'infezione recente e per i rimanenti l'origine non ha potuto essere stabilita.

Figura 4: Classi d'età 1994-2003

Età	Svizzeri	Stranieri	Totale casi	Età	Svizzeri	Stranieri	Totale casi
0-4	1	1	2	50-54	6	4	10
5-9	0	1	1	55-59	10	8	18
10-14	0	0	0	60-64	11	3	14
15-19	2	10	12	65-69	8	5	13
20-24	4	27	31	70-74	10	9	19
25-29	6	15	21	75-79	11	2	13
30-34	7	14	21	80-84	9	6	15
35-39	8	14	22	85-89	16	2	18
40-44	4	8	12	=>90	8	0	8
45-49	1	5	6	Totale	122	134	256

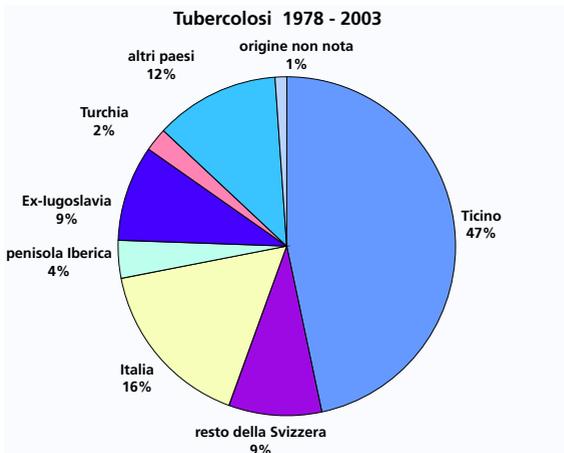


Discussione

L'automatizzazione e le tecniche molecolari (Bactec, PCR) hanno permesso d'accelerare i tempi di rivelazione e di identificazione, hanno avuto però un'incidenza minima sulla sensibilità dell'analisi. Le colture tradizionali su terreni solidi restano, malgrado la lentezza della crescita, il metodo di riferimento.

Sebbene il bacino d'utenza dell'ICM corrisponda ad un'unità geografica precisa, non è possibile dai dati di laboratorio calcolare gli indici di incidenza, in quanto alcuni pazienti residenti in Ticino sono curati fuori Cantone e all'inverso pazienti d'oltralpe possono venir diagnosticati da noi. Quanto ai pazienti stranieri, è difficile sapere se si tratta di persone domiciliate, di passaggio o di richiedenti d'asilo, per cui non è possibile riferirli ad un denominatore quale sarebbe la popolazione residente. E' compito delle autorità nazionali redigere le statistiche basandosi sulle notifiche provenienti dai laboratori e dai medici curanti. I dati per la Regione europea dell'OMS sono pubblicati su Internet dal gruppo EuroTB. Va notato che la dichiarazione obbligatoria concerne tutti i casi di tubercolosi che necessitano trattamento, dunque anche i casi senza conferma microbiologica che per la Svizzera sono pur sempre il 17,5%.

Figura 5: Origine geografica dei nuovi casi di tubercolosi diagnosticati in Ticino.



Solo casi batteriologicamente accertati espressi in percentuale su un totale di 913 pazienti (=100%).

La sorveglianza costante dei dati di laboratorio permette perlomeno di seguire l'evoluzione temporale e di constatare, malgrado un andamento fluttuante, una diminuzione della tubercolosi soprattutto nei pazienti svizzeri. figura 5

Dato che ormai più del 50% dei casi di tubercolosi concerne la popolazione straniera, i nostri dati sono fortemente influenzati dai flussi migratori, in particolare dalle persone provenienti dai paesi ad alta endemia. La curva dell'età riflette la situazione tipica dei paesi dell'Europa occidentale con un picco di giovani stranieri ed un picco d'anziani indigeni. La diminuzione del numero assoluto di casi e la predominanza del sesso maschile sono altresì constatati a livello nazionale.

I pazienti svizzeri affetti da tubercolosi bovina sono più anziani di quelli colpiti da *M. tuberculosis* (mediana per l'età 69, rispettivamente 64), d'altro canto l'ultimo caso diagnosticato risale a oltre 5 anni fa. Questo lascia supporre che si tratti di riattivazione endogena di focolai dovuti al contatto col bacillo avvenuto prima del risanamento dei bovini effettuato nella seconda metà degli anni quaranta.

Sul fronte della sensibilità ai farmaci antitubercolari, la situazione è stabile e non allarmante. Alla luce dell'evoluzione constatata in altri paesi, conviene nondimeno mantenere un controllo stretto, tanto più che non si intravede l'apparizione di nuove molecole altrettanto efficaci e ben tollerate come quelle attualmente in uso.

Per quel che riguarda i MNT, mancando di dati clinici non è sempre possibile stabilire la rilevanza dell'infezione. Nella maggioranza dei casi, solo la messa in evidenza in materiali normalmente sterili permette di fare la differenza tra colonizzazione e malattia invasiva. Ciò nonostante la curva dell'infezione da *M. avium-intracellulare* sembra seguire la storia dell'HIV, con un massimo durante i primi anni dell'epidemia ed una diminuzione a partire dall'utilizzo dei farmaci antiretrovirali.

In conclusione riteniamo che la valutazione su lunghi periodi di un elevato numero di campioni, contribuisca a migliorare le conoscenze riguardo all'epidemiologia della tubercolosi e delle micobatteriosi atipiche a livello regionale ma anche a livello nazionale e internazionale.

BIBLIOGRAFIA

disponibile presso gli autori

Prof. Raffaele Peduzzi, direttore Istituto Cantonale di Microbiologia
via Mirasole 22a 6500 Bellinzona

Articolo ripreso da "Tribuna medica" settembre 2004.

Suivez ces Conseils VOUS VIVREZ LONGTEMPS



Vivez le plus possible
au grand air



Dormez
la fenêtre ouverte



Ne portez pas à la bouche les objets sur
lesquels la salive des autres a pu se poser



Brossez-vous les dents
avant de vous coucher



Tenez-vous droit
à l'école



Prenez un bain
au moins 1 fois par semaine



Lavez vos mains avant
de vous mettre à table



Ne crachez jamais
à terre