

CLINICAL REPORTS/CASI CLINICI

Enterite da *Campylobacter upsaliensis*: un paradigma della microbiologia clinica

Maria Letizia D'Annibale¹, Daniele Crotti²

¹Struttura Complessa di Microbiologia, Azienda Ospedaliera di Perugia, Perugia

²Libero Professionista in Parassitologia e Microbiologia Medica, Perugia

Key words: *Campylobacter upsaliensis*, enteritis, acute diarrhoea, filter membrane technique

Acute diarrhoea caused by *Campylobacter upsaliensis*: a case report

SUMMARY

The Authors describe a case of acute enteritis in a adult woman with severe hepatitis C infection caused by a strain of *Campylobacter upsaliensis*. The clinical isolate was obtained only on blood agar because filter membrane technique was performed. In fact for this strain it was no growth on selective Campy agar, which include cephalotin too; *C. upsaliensis* is sensitive to this antibiotic molecule. So, the use of filter membrane on blood agar or charcoal agar at 37°C in microaerophilic atmosphere is recommended for isolation of all campylobacters responsible of human enteritis.

INTRODUZIONE

Tra gli agenti batterici responsabili di diarrea acuta nell'uomo, i ceppi termotolleranti di *Campylobacter* (*C. jejuni*/*C. coli*) sono sicuramente tra i più frequentemente isolati, al pari di *Salmonella enterica* (3, 4, 6, 7). Altri patogeni batterici sono, nella nostra realtà, piuttosto infrequenti, così come specie diverse del genere *Campylobacter* e di genere affini (4, 5, 7). Questo è in parte espressione dell'endemia locale, così come è o può essere verosimilmente correlato alle scelte operative diagnostiche utilizzate, spesso vincolate dall'uso di terreni altamente selettivi (3, 6, 7). Con l'utilizzo di procedure non specificatamente selettive è peraltro possibile isolare ceppi di altre specie appartenenti ai generi della famiglia *Campylobacteriaceae* (1, 3, 8). Descriviamo così l'isolamento, per la prima volta documentato, di una specie differente dal gruppo *C. jejuni/coli*, grazie all'utilizzo di una tecnica non selettiva, utile e necessaria per buona parte dei membri appartenenti a tale famiglia (1, 2).

DESCRIZIONE DEL CASO

In data 22/06/06 un soggetto di sesso femminile di anni 66, affetto da cirrosi epatica correlata ad infezione da HCV, viene ricoverato in reparto di Malattie Infettive in quanto affetto da diarrea intensa da alcuni giorni (con oltre tre evacuazioni giornaliere) e con rialzo termico.

In data 24/06/06 vengono richiesti al laboratorio microbiologico (al settore di competenza) una coprocultura (più razionalmente interpretata come esame microbiologico delle feci) e un esame coproparassitologico. Le feci si presentano liquide con aspetto mucoso. L'osservazione microscopica mette in evidenza la presenza di numerosi leucociti neutrofilici polimorfonucleati. Sulla base di tali osservazioni vengono allestite le coproculture per *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio*, *Aeromonas*, *Yersinia*, ricorrendo ai terreni commerciali specifici al riguardo; per la ricerca di *Campylobacter* si ricorre invece alla semina su agar sangue (AS) con la tecnica della membrana filtrante, da anni in uso presso tale struttura (1, 2, 5, 6). Viene altresì subito ricercato, in coltura, *Clostridium difficile*, anche se il soggetto non

aveva fatto di recente uso di antibiotici, nonché le sue tossine A e B (in ELISA e in coltura cellulare rispettivamente).

Tutte le colture risultano negative, così come la ricerca delle tossine di *C. difficile* (nonché l'esame coproparassitologico), ad eccezione della coltura su AS, che evidenzia, dopo 48 ore di incubazione in microaerofilia a 37°C, la crescita di una patina di colonie tipiche di *Campylobacter* (3, 4), subito confermate tali con la positività della citocromoossidasi e con la colorazione secondo Gram che mette in risalto la presenza di bastoncini ricurvi ad "esse" e ad "ala di gabbiano" Gram-negativi (5). Vengono allestite pertanto le singole prove biochimiche per procedere alla identificazione di genere e di specie: catalasi, indoxylacetato, idrolisi dell'ippurato, produzione di idrogeno solforato (su TSI e FBP), crescita a 25°C e 42°C, crescita su agar McConkey, crescita su terreno selettivo antibiotato specifico per *Campylobacter* (Campy agar, addizionato di cefalotina) riduzione dei nitrati, e test di sensibilità con sistema di diffusione su Mueller Hinton AS alle seguenti molecole antimicrobiche: cefalotina, acido nalidixico, norfloxaci-

na, ciprofloxacina, ampicillina, amoxicillina + acido clavulanico, cefotaxime, cloramfenicolo, gentamicina, eritromicina, rokitamicina, tetraciclina, minociclina (4, 5).

Viene allestita anche una galleria API Campy, pur sapendo dell'inadeguatezza della medesima, ma di parziale supporto per alcune prove singole, quali l'ureasi, la riduzione dei nitrati, l'idrolisi dell'ippurato e la produzione di idrogeno solforato (1, 5). Il profilo identificativo è riportato in tabella 1. L'insieme di tali prove ha consentito così l'identificazione del ceppo come *Campylobacter upsaliensis* (1, 5).

Tabella 1. Caratteristiche biochimiche di *C. upsaliensis*

PROVA BIOCHIMICA	<i>C. upsaliensis</i>
Ossidasi	positiva
Catalasi	negativa
Riduzione dei nitrati	positiva
Idrolisi dell'ippurato	negativa
Produzione di idrogeno solforato	negativa
Sensibilità a cefalotina	positiva
Sensibilità ad acido nalidixico	positiva
Crescita a 25°C	negativa
Crescita a 42°C	positiva
Crescita su McConkey	negativa
Crescita su Campy agar	negativa

COMMENTO

Mentre il profilo biochimico e il conseguente codice numerico dell'API Campy non ha fornito alcuna congrua identificazione (pur confermando la positività della riduzione dei nitrati e la negatività delle altre prove), vogliamo segnalare, quali prove importanti ed utili per la corretta identificazione dello stipite, la sensibilità a cefalotina e quindi la mancata crescita su Campy agar, la crescita a 42°C (non sempre peraltro positiva per tale "spirillo"), la negatività della prova della catalasi (che in questa specie a volte può essere anche debolmente positiva) (1, 5). L'antibiogramma ha confermato, sia pur solo in parte, quanto già riportato al riguardo, ossia sensibilità a tutte le molecole, in particolare ampicillina, eccezion fatta per il cotrimoxazolo (9).

L'utilità dell'utilizzo della tecnica della membrana filtrante su AS (ma che può essere altresì condotta su agar carbone, AC) è stata perciò determinante per isolare lo stipite in questione e per allestire le successive prove per la valutazione delle caratteristiche fenotipiche e quindi la sua identificazione (1, 2, 3, 6).

Diversamente da altri stipiti di *Campylobacter* appartenenti soprattutto al gruppo termotollerante (5, 7), ed agenti zoonotici correlati a pollame e suini, *C. upsaliensis* è invece associato a zoonosi correlate al cane (1), laddove generi affini come *Arcobacter* sembrano essere di pertinenza forse

esclusivamente umana (8). Questo potrebbe essere di stimolo per ulteriori approfondimenti anche in campo epidemiologico ed epizootico (1, 2, 5). In definitiva, ci preme sottolineare l'estrema importanza, nell'isolamento di *Campylobacter* spp. (e generi correlati) dell'utilizzo della tecnica della membrana filtrante, che, in tempi analoghi, se non inferiori, ai terreni selettivi, è in grado di permettere la crescita di tutte le specie di interesse umano (4, 5). Con risorse economiche a disposizione, potrebbe essere utile affiancarla ai terreni specifici selettivi commerciali solitamente in uso, al fine di potere già nell'arco di (24-) 48 (-72) ore dalla prima semina, discriminare tra ceppi di *Campylobacter* sicuramente resistenti alla cefalotina (*C. jejuni/coli/lari*, *C. concisus*), che possono così crescere su entrambi i terreni (Campy agar, ad esempio, tra i selettivi, e AS o AC, con la tecnica della membrana filtrante), e quelli sensibili alla medesima, che cresceranno soltanto sul terreno non selettivo, quali *C. upsaliensis*, *C. mucosalis*, *C. hyointestinalis* (5).

BIBLIOGRAFIA

1. Bourke B, Chan VL, Sherman P. *Campylobacter upsaliensis*: Waiting in the Wings. Clin Microbiol Rev 1998; 11 (3): 440-9.
2. Butzler JP. *Campylobacter*, from obscurity to celebrity. Clin Microbiol Infect 2004; 10: 868-76.
3. Crotti D. Campylobacteriosi nel perugino nel primo biennio del nuovo secolo: alcuni aspetti e considerazioni di microbiologia clinica. Microbiol Med 2004; 19 (1): 37-41.
4. Crotti D. Infezioni intestinali sostenute da *Campylobacter jejuni/coli* nella seconda metà degli anni '90: aspetti clinico-microbiologici e fenotipi di resistenza. GIMMOC 2002; VI (1): 19-24.
5. Crotti D, Luzzi I. Infezioni da *Campylobacter*. Microbiol Med 2001; 16 (1): 37-42.
6. Crotti D, D'Annibale ML. Enteriti da *Campylobacter* e generi correlati: quale endemia? Brevi considerazioni. GIMMOC 2005; Vol IX (2): 122-5.
7. Scarlata F, Titone L, Li Vecchi V, et al. Il ruolo di *Campylobacter* spp. quale agente di enterite in Sicilia occidentale. Le Infezioni in Medicina 2004; 4: 239-44.
8. Vandenberg O, Dediste A, Houf K, et al. *Arcobacter* Species in Humans. EID 2004; 10 (10): 1863-7.
9. Vandenberg O, Houf K, Douat N, et al. Antimicrobial susceptibility of clinical isolates of non-*jejuni/coli* campylobacters and arcobacters from Belgium. JAC 2006; doi:10.1093/jac/dk1080.

Maria Letizia D'Annibale

Struttura Complessa di Microbiologia,
Azienda Ospedaliera di Perugia,
Largo G. Menghini 1 - 06100 Perugia