

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-

mente; mentre più a livello di ricerca si impiegano test genetici.

Secondo il metodo tradizionale, la tossinogenicità viene valutata sul ceppo isolato, allungando così i tempi di risposta. Va però ricordato che, quasi come regola, si ritrova tossina libera nelle feci, per cui la messa in evidenza ed identificazione della tossina specifica direttamente nel campione fecale rappresenta l'approccio più diretto per determinare il ruolo del microrganismo.

I diversi approcci e metodi diagnostici verranno discussi e focalizzati in relazione alla diagnosi delle infezioni da *Clostridium difficile* ed alla ricerca dei ceppi di *Escherichia coli* enteroemorragici EHEC.

---

## CP.6

---

### DIAGNOSTICA DELLE GASTROENTERITI VIRALI

**Cermelli C.**

*Dipartimento di Scienze Igienistiche,  
Microbiologiche e Biostatistiche,  
Università di Modena e Reggio Emilia*

Le gastroenteriti virali rappresentano una delle più frequenti cause di ricovero ospedaliero in età pediatrica e anche, soprattutto nei paesi in via di sviluppo, una significativa causa di mortalità. I rotavirus sono gli agenti eziologici più frequentemente coinvolti, rendendosi responsabili, in bambini al di sotto dei 5 anni, di circa 500.000 decessi in tutto il mondo ogni anno. Altri agenti importanti coinvolti sono calicivirus (la causa più frequente negli adulti), astrovirus, adenovirus enterici. Infine, in questi ultimi anni, stanno emergendo nuovi virus come possibili agenti eziologici di gastroenteriti, tra cui torovirus, altri coronavirus non-torovirus, pestivirus, picobirnavirus, picotrinnavirus, echovirus 22. Considerando l'importanza della patologia e la grande varietà sempre in espansione di agenti eziologici implicati, la diagnosi di questo tipo di infezione rappresenta un problema importante. Accanto alle metodiche classiche di isolamento virale, di microscopia elettronica e di immunoenzimatica per la ricerca degli antigeni virali, si vanno sempre più affermando tecniche di biologia molecolare che non solo si dimostrano spesso le più sensibili e veloci, ma consentono, in alcuni casi, la simultanea ricerca di molti tipi diversi di virus e la loro tipizzazione (sempre molto utile da un punto di vista epidemiologico), oltre ad essere indispensabili per la diagnostica dei calicivirus che non sono coltivabili *in vitro*. Viene presentata una rassegna delle più usate metodiche diagnostiche per i virus enterici, nonché una revisione critica sulle più recenti acquisizioni nel campo della diagnostica molecolare.

---

## CP.7

---

### LA DIAGNOSTICA PARASSITOLOGICA

**Orsi A.**

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

Diversi fattori hanno determinato negli ultimi venti anni un aumentato interesse per la parassitologia.

La facilità di spostamento da una parte all'altra del globo terrestre ed il conseguente aumento dei viaggi ha reso la terra un posto molto piccolo. E' così aumentata per i viaggiatori la possibilità di esposizione a parassiti non endemici nei luoghi di residenza ed anche la possibilità di trasmetterli ad altri individui.

Ne deriva la necessità di ottenere una anamnesi completa dei pazienti e la conoscenza dei parassiti che possono essere presenti in una data area geografica.

I flussi migratori da sud a nord e da est ad ovest, sempre più numerosi negli ultimi anni, hanno determinato la necessità di prendere in considerazione nella diagnosi di infezioni gastroenteriche parassiti che non erano presenti nelle nostre aree geografiche.

Infine l'aumento dei pazienti con disordini del sistema immunitario (aids, trapianti di organi, terapie immunosoppressive) ha determinato la comparsa di infezioni da parassiti "opportunisti" come Microsporidi, Cryptosporidi e Cyclospora.

La diagnosi corretta delle parassitosi intestinali dipende da un certo numero di procedure che, se non correttamente eseguite, può inficiare l'esito della ricerca. La positività dell'esame dipende sia dalla preparazione del paziente che dalle modalità di raccolta, conservazione e trasporto dei campioni.

Fattori influenzanti l'esame parassitologico sono costituiti dal numero di campioni esaminato, dai metodi utilizzati e, non ultimo, dalla esperienza del personale addetto alla lettura dei preparati microscopici.

La ricerca dei parassiti intestinali con metodi tradizionali si basa sull'esame macroscopico e microscopico delle feci. Il primo, fornendo indicazioni generali sulle caratteristiche organolettiche del campione, può aiutare sulla scelta dei metodi diagnostici e permette soprattutto il rilievo di Elminti.

L'esame microscopico può essere eseguito a fresco direttamente o dopo concentrazione delle feci e dopo colorazione permanente. L'esame microscopico diretto è meno sensibile e meno specifico di quello eseguito utilizzando tecniche di concentrazione fecale. Tuttavia anche dopo concentrazione non sempre è possibile eseguire diagnosi di specie. L'uso di colorazioni permanenti è reso necessario sia per migliorare la diagnosi di specie sia perché alcuni protozoi sono difficilmente riconoscibili in preparati a fresco.

La diagnosi sierologica di parassitosi intestinali si avvale da molti anni di vari metodi per il rilievo di anticorpi specifici tuttavia non è molto utilizzata per