

# MICOBATTERI IN FIBROSI CISTICA parte 1

## Flavio Favari

Servizio di Microbiologia Immunologia e Virologia  
Azienda Ospedaliera di Verona

I micobatteri sono bacilli sottili ed allungati, morfologicamente piuttosto omogenei, lunghi 1-5  $\mu\text{m}$  e del diametro di 0,2-0,6  $\mu\text{m}$ . La loro diffusione è ubiquitaria, si possono rinvenire nel suolo, nelle acque, nei cibi e come ospiti di diverse specie animali. Possono essere aerobi stretti o micro-aerofili, non sono nè mobili nè sporigeni e, ad eccezione di poche specie, presentano ritmi riproduttivi estremamente lenti.

La maggior parte delle proprietà che caratterizzano i micobatteri sono legate al loro elevato contenuto lipidico, che raggiunge a livello della parete cellulare, valori elevatissimi (oltre il 60% del peso secco). Questi lipidi, costituiti da cere ed esteri di acidi grassi (acidi micolici), li rendono estremamente resistenti alle aggressioni dell'ambiente e sono fondamentali per la peculiare caratteristica dell'alcool-acido resistenza che permette ai micobatteri, una volta colorati con fucsina o fluorocromo, di non rilasciare il colorante nonostante un trattamento con acido ed alcool.

I micobatteri vengono tutt'ora suddivisi secondo la classificazione di Runyon in cinque gruppi ma a livello clinico, è più utile la divisione fra *M. tuberculosis complex*, tipico patogeno umano e micobatteri ambientali (tutti gli altri) che danno patologia solo in alcune, particolari, condizioni di debilitazione del paziente (ma c'è ancora molto da studiare).

**Il *Mycobacterium tuberculosis*** (MTB) accompagna l'uomo fin dai primordi, (sono state trovate ossa del neolitico con lesioni da MTB) e, nonostante gli svariati tentativi di eradicazione, anche ai nostri giorni, provoca un gran numero di morti.

**I micobatteri ambientali** (atipici) sono estremamente diffusi nell'ambiente, considerati da sempre saprofiti, negli ultimi decenni sono venuti alla ribalta per il loro ruolo di patogeni umani. Ad oggi alcune specie sono già riconosciute patogeniche e pertanto trattate, mentre altre specie, seppur fortemente sospettate, necessitano di ulteriori studi.

Nei pazienti FC la letteratura descrive una incidenza del 13-15% legata soprattutto a micobatteri ambientali. Poco si sa della reale importanza che riveste la presenza di questi micobatteri nei secreti FC: sono solo germi di transito intrappolati nelle secrezioni o sono veri patogeni che vanno ad aggravare situazioni già gravi? Sicuramente c'è ancora molto da studiare, quindi per ora è importante cercarli e segnalarli al clinico... tra qualche anno avremo sufficienti dati per decidere come gestire questi germi.

La disseminazione dei bacilli è solitamente intermittente, pertanto è necessario l'invio di più campioni dello stesso paziente; qualora sia possibile (per gli escreti sempre), si consiglia l'invio di almeno 3 campioni per ciascun materiale studiato.

I materiali devono pervenire al Laboratorio quanto prima, qui vengono sottoposti a digestione delle sostanze mucose e a decontaminazione della flora associata mediante N-acetil- L-

cisteina + NaOH al 3% o 5%. Si procede quindi a centrifugazione a 3800 G per 20 minuti a 4 C°, per poi colorare il materiale con fluorocromi o mediante la colorazione di Kinyoun.

La colorazione a fluorescenza risulta vantaggiosa per la rapidità di lettura consentita dalla maggior ampiezza di campo di osservazione microscopica (400x), sia rispetto alla colorazione Kinyoun(1000x) che a quella di Ziehl-Neelsen (che andrebbe abbandonata per la sua tossicità); successivamente, per una visione morfologica, lo stesso vetrino trattato con fluorocromi può essere colorato con metodo Kinyoun.

Il materiale concentrato e decontaminato va seminato in almeno un terreno liquido (quasi tutti i sistemi in commercio sono automatizzati e vanno tutti abbastanza bene) e su terreno solido Lowenstein-Jensen che, nonostante i tempi lunghi (6-8 settimane), riesce a recuperare anche germi particolarmente esigenti. Il materiale va comunque tenuto in osservazione per minimo 6 settimane.

L'antibiogramma va sempre eseguito per l'MTB testando i principali farmaci: Streptomycin, Isoniazide, Rifampicina, Etambutolo e Pirazinamide.

Per i chemioterapici di seconda scelta per il MTB e quelli da testare sui micobatteri ambientali riconosciuti patogeni, bisogna rivolgersi ai Centri Regionali per lo Studio dei Micobatteri.

La biologia molecolare ci viene in aiuto per l'identificazione del germe (in particolare x gli ambientali) e per una rapida identificazione del MTB direttamente sul materiale respiratorio.