

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI FERRARA

C.A.R.I.D

(CENTRO DI ATENEIO PER LA RICERCA, L'INNOVAZIONE DIDATTICA E L'ISTRUZIONE A DISTANZA)

e

FACOLTÀ DI MEDICINA E CHIRURGIA

DIPARTIMENTO DI SCIENZE CHIRURGICHE, ANESTESIOLOGICHE E RADIOLOGICHE

Master Universitario in
Terapia compressiva e metodiche di riparazione tissutale

Unità didattica

MICROBIOLOGIA DELLE ULCERE CUTANEE

di

Dario Di Luca

Professore Associato di Microbiologia e Microbiologia Clinica
Università degli Studi di Ferrara

Direzione del Master Paolo Frignani
Coordinamento scientifico Paolo Zamboni
Coordinamento didattico Mariasilvia Accardo, Francesca Pancaldi

Direzione del corso: Paolo Frignani
Autore: Dario Di Luca, Docente del Master, Università degli Studi di Ferrara

L'edizione del presente volume costituisce parte integrante del Master in
"Terapia compressiva e metodiche di riparazione tissutale".
Non è pertanto destinata a circolazione commerciale.

Gennaio 2004 - C.A.R.I.D.©
Via Savonarola, 27 - 44100 Ferrara
Tel.: +39 0532 293439 - Fax: +39 0532 293412
E-mail: carid@unife.it
<http://carid.unife.it>

INTRODUZIONE

Dal punto di vista microbiologico, la funzione primaria dei rivestimenti cutanei e mucosi è quella di controllare le popolazioni microbiche che proliferano sulle superfici interne ed esterne del corpo, e di prevenire la colonizzazione e l'invasione dei tessuti sottostanti da parte di microrganismi potenzialmente patogeni. La perdita dell'integrità cutanea (per esempio in seguito a ferite, piaghe, ulcere), e la conseguente esposizione del tessuto sottocutaneo, fornisce un ambiente ideale per la colonizzazione e la proliferazione batterica. In pratica, la quantità e la varietà dei microrganismi presenti in qualsiasi tipo di lesione cutanea sono influenzate da numerosi fattori, quali il tipo di ferita, la sua profondità, la sua localizzazione, il livello di perfusione tissutale, e l'efficacia antimicrobica della risposta immune del paziente. Anche se tutte le ferite sono potenzialmente soggette al rischio di infezione, la microflora associata a ferite chirurgiche "pulite" è minima, mentre la presenza di materiale estraneo in ferite traumatiche o di tessuti devitalizzati in piaghe croniche facilita la proliferazione microbica. La presenza di microrganismi nelle ferite può rispecchiare tre distinte situazioni: contaminazione, colonizzazione ed infezione. La *contaminazione* si verifica quando sono presenti microrganismi che non replicano. Questi contaminanti derivano soprattutto dall'ambiente esterno e non sono in grado di sopravvivere in quanto si trovano in condizioni a loro sfavorevoli (per esempio microrganismi del suolo, dell'acqua ecc.). La *colonizzazione* si verifica quando i microrganismi riescono a superare le difese locali, replicano, ma non causano sintomi clinici o risposte immunitarie evidenti e non alterano la normale fisiologia dell'ospite. Spesso questi batteri derivano dalla flora normale commensale e, più raramente, da sorgenti ambientali. L'*infezione* è caratterizzata dalla presenza di sintomi clinici associati alla replicazione di microrganismi, dovuti sia ad un danno diretto da parte del microrganismo, che alla produzione di sostanze tossiche. È causata da microrganismi colonizzanti quando riescono a superare le difese locali, invadendo i tessuti sottostanti e/o producendo sostanze tossiche e fattori di virulenza.

Anche se i microrganismi sono senza dubbio responsabili del processo infettivo in ferite, piaghe ed ulcere, non sono ancora stati determinati con precisione né i meccanismi che consentono lo stabilirsi dell'infezione, né il significato della presenza microbica nelle ulcere croniche in assenza di chiari segni clinici di infezione.

Obiettivi

QUESTA UNITÀ DIDATTICA DESCRIVERÀ:

- la microbiologia delle piaghe croniche, descrivendo nelle linee generali i processi di colonizzazione ed infezione e discutendo la rilevanza clinica della presenza di microrganismi nelle piaghe, sia negli aspetti quantitativi che qualitativi;
- quando e come eseguire l'esame colturale per la ricerca e l'identificazione dei microrganismi;
- il ruolo degli antimicrobici, antibiotici ed agenti topici, nella terapia delle ulcere croniche.

FLORA MICROBICA COMMENSALE DELLA PELLE

Il corpo umano è costantemente colonizzato da diversi microorganismi che, in circostanze normali ed in individui sani, sono innocui e possono talvolta anche essere utili (competizione con microorganismi patogeni, produzione di vitamine ed altre sostanze ecc). Tale flora (batterica e fungina) viene definita commensale, e varia in ogni individuo, a seconda dell'età, dello stato di salute, delle condizioni igieniche ed alimentari, delle aree geografiche. I siti del corpo abitati dalla flora commensale sono logicamente quelli a contatto con l'esterno: pelle, occhi, tratto gastrointestinale, apparato respiratorio, tratto urogenitale. I commensali più comuni della pelle sana sono batteri Gram positivi, soprattutto *Staphylococcus Epidermidis* ed altri stafilococchi coagulasi negativi, che si ritrovano in quantità di circa 10^3 - 10^4 per cm^2 , e costituiscono circa il 90% della flora microbica aerobia. Meno spesso sono presenti *S. aureus*, *Pseudomonas* spp. e *Corynebacterium* spp. Fra i batteri anaerobi, sono più rappresentati il *Propionibacterium acnes*, *Acinetobacter*, *Clostridium perfringens*, che risiedono negli strati epidermici più profondi, nei follicoli piliferi, nelle ghiandole sudoripare e sebacee. Funghi commensali sono rappresentati da *Candida* spp., *Malassezia* spp. e *Pityrosporon* spp.

MICROBIOLOGIA DELLE PIAGHE CRONICHE

Le piaghe croniche sono frequentemente causate da meccanismi endogeni, associati a condizioni predisponenti. Le anomalie patofisiologiche che predispongono allo sviluppo di piaghe croniche comprendono alterazioni della perfusione tissutale (spesso per malattie vascolari ed ipertensione venosa) e malattie metaboliche, quali il diabete mellito. Condizioni esacerbanti sono rappresentate da obesità, età avanzata, immunosoppressione (AIDS, radioterapia, chemioterapia). Le ulcere da decubito hanno eziologia diversa dalle altre piaghe croniche, in quanto sono causate da prolungate pressioni esterne sulla cute, ma la cronicità è facilitata dalle concomitanti patologie di cui soffrono questi pazienti. In ogni caso, il risultato finale è la compromissione dell'integrità dell'epidermide, con esposizione del tessuto sottocutaneo all'ambiente esterno.

◆ Colonizzazione

L'esposizione del tessuto sottocutaneo fornisce un substrato favorevole per lo sviluppo di contaminazione e colonizzazione di una notevole varietà di microorganismi. Le condizioni diventano ottimali per la crescita microbica quando il tessuto coinvolto non è vitale (ischemico, ipossico o necrotico) o nel caso in cui la risposta immunitaria dell'ospite sia compromessa. Le più importanti sorgenti di contaminanti sono rappresentate dall'ambiente esterno (per esempio microorganismi esogeni presenti nell'aria, nel suolo, su oggetti), dal tessuto che circonda la lesione (la normale flora commensale della pelle) e, soprattutto per lesioni in prossimità degli orifizi corporei, da fonti endogene (tratto gastrointestinale, orofaringe, mucosa genitourinaria). Mentre una ferita acuta in corso di guarigione rappresenta un processo rapido e solo raramente consente a pochi microorganismi contaminanti di aderire alla lesione e di proliferare, la presenza di tessuto non vitale e la continua esposizione di tessuto sottocutaneo, fenomeni tipici delle piaghe croniche, facilitano la colonizzazione di un notevole numero di diverse specie batteriche, aerobiche e anaerobiche. Tali microorganismi possono aderire al tessuto e trovare le condizioni opportune per la loro proliferazione. Anche se replicano, non instaurano necessariamente processi infettivi patologici. In tabella 1 sono riportati alcuni dei microorganismi che frequentemente colonizzano piaghe croniche, senza essere associati a segni di infezione clinica e senza alterare la normale fisiologia dell'ospite. Generalmente, il proces-

so di colonizzazione è polimicrobico, e, a livello delle piaghe croniche, si riscontrano frequentemente diverse specie batteriche.

Fra i fattori che favoriscono la colonizzazione microbica svolge un ruolo importante la quantità di ossigeno presente nel tessuto. È stato determinato che la probabilità di guarigione di una ferita è estremamente alta se la tensione di ossigeno tissutale è > 40 mmHg, e che valori < 20 mmHg sono spesso associati alla mancanza di guarigione (1). Le piaghe croniche sono frequentemente ipossiche (2), come conseguenza dell'ischemia, ed i processi metabolici (sia dell'ospite sia dei microrganismi colonizzanti) contribuiscono ulteriormente a diminuire la quantità di ossigeno disponibile. Pertanto, vengono a crearsi condizioni favorevoli allo sviluppo di microrganismi anaerobi la cui proliferazione è facilitata dal consumo di ossigeno da parte dei batteri aerobi facoltativi. Inoltre, l'ossigeno rappresenta una componente fondamentale anche per l'attività respiratoria dei leucociti polimorfonucleati, che porta alla produzione intracellulare di metaboliti antimicrobici. Cali nella disponibilità di ossigeno a livello tissutale si riflettono perciò in significative diminuzioni della capacità di risposta antimicrobica dell'ospite.

◆ **Infezione**

L'infezione si verifica quando i fattori di virulenza prodotti da uno o più microrganismi colonizzanti hanno il sopravvento sulle difese immunitarie locali. I fattori che contribuiscono a trasformare la colonizzazione in infezione sono la carica batterica particolarmente elevata, i fattori di virulenza prodotti dai ceppi batterici presenti (alcuni dei quali sono riassunti in tabella 2), la capacità di resistenza dell'ospite. La conseguente invasione e disseminazione dei microrganismi può provocare effetti sia locali sia sistemici. Le risposte locali sono caratterizzate, fra l'altro, da infiammazione, dalla produzione di materiale purulento, dalla formazione di eritema doloroso attorno alla piaga, da cattivo odore. Gli effetti sistemici sono associati a sepsi ed al rilascio di endotossine batteriche, ed includono febbre, brividi, ipotensione, e possono condurre a shock tossico. La progressione da lesione colonizzata a infezione attiva comprende molteplici fattori dell'ospite e microbici, fra cui le caratteristiche della lesione (localizzazione, dimensioni, profondità), lo stato di salute dell'individuo ed il suo stato immunitario, la carica microbica, ed eventuali sinergie fra le specie batteriche presenti. In genere, le piaghe croniche presentano modificazioni della flora microbica con il passare del tempo (3). Nelle prime fasi, la piaga è colonizzata dalla normale flora commensale della cute, ma nel giro di 4 settimane si manifesta una prevalenza di cocchi aerobi gram-positivi (streptococchi beta-emolitici, *S. aureus*). In seguito, si sviluppano miscele polimicrobiche fra aerobi ed anaerobi.

SPECIE BATTERICHE INFETTANTI LE PIAGHE CRONICHE

Le piaghe croniche infettate presentano molto spesso una popolazione polimicrobica, spesso con una significativa componente di microrganismi anaerobi (4), nonostante la localizzazione superficiale delle piaghe. La specie batterica isolata più frequentemente nelle ulcere plantari dei pazienti diabetici è *S. aureus*. Altri batteri aerobi isolati comunemente sono *S. epidermidis*, *P. aeruginosa*, enterococchi e coliformi. Vengono spesso isolati anche batteri anaerobi, da oltre il 95% delle lesioni, e le specie più rappresentate sono *Peptostreptococcus*, *Prevotella*, *Bacteroides*. Anche le infezioni delle ulcere venose sono spesso polimicrobiche, soprattutto con *S. aureus* (aerobio più frequente) e *peptostreptococco* (anaerobio più frequente); i batteri anaerobi sono presenti in circa il 50% delle lesioni infettate. I batteri più frequentemente isolati dalle ulcere da decubito sono sempre *S. aureus*, *Peptostreptococcus*, *Bacteroides*, e si riscontra frequentemente anche la presenza di *Pseudomonas aeruginosa*. Gli anaerobi sono relativamente meno frequenti, e vengono isolati in circa il 20% delle lesioni infettate. Inoltre, complicazioni comuni di ulcere da decubito infettate sono rappresentate da osteomielite e batteriemia; *S. aureus* viene isolato in circa il 60% delle complicazioni. È importante

considerare che le specie batteriche isolate da piaghe infettate sono generalmente le stesse riscontrate in piaghe colonizzate ma senza segni di infezione clinica (vedi tabella 1).

RILEVANZA CLINICA DELLA PRESENZA DI MICROORGANISMI NELLE PIAGHE CRONICHE

◆ Aspetti qualitativi

Data la natura polimicrobica delle piaghe infettate, e considerando che le stesse specie batteriche si riscontrano frequentemente nelle piaghe croniche infettate e in quelle senza sintomi clinicamente evidenti, non è possibile associare la presenza di specifiche specie batteriche con lo sviluppo del processo infettivo. Pertanto, se indirizzati unicamente all'identificazione del singolo patogeno responsabile del processo infettivo, i risultati degli esami microbiologici forniscono indicazioni scarsamente utili, dal punto di vista sia diagnostico sia terapeutico. La diagnosi di infezione deve essere basata principalmente su segni clinici, quali calore, dolore, eritema, edema, febbre, suppurazione. Gli studi microbiologici indicano che la patogenesi non è associata alla presenza di specifici microorganismi, per quanto potenzialmente patogeni (come *S. aureus*, streptococchi beta-emolitici ecc.), ma è invece collegata alla quantità di specie batteriche presenti ed alla composizione della flora batterica. Per esempio, nelle ulcere venose infettate si riscontrano in media oltre 5 diverse specie batteriche, mentre in quelle non infettate sono solitamente presenti meno di 4 specie diverse (5, 6). È quindi probabile che le diverse specie interagiscano dinamicamente, aumentando gli effetti patogenetici in modo sinergico. Come accennato in precedenza, i batteri aerobi, consumando l'ossigeno tissutale, incrementano l'ipossia, favorendo così la crescita degli anaerobi. Inoltre, metaboliti prodotti da una specie batterica possono promuovere la crescita di altri microorganismi; per esempio il potenziale patogeno di *Prevotella melanogenica* è correlato alla produzione di vitamina K da parte di altri microorganismi (7). Infine, alcuni batteri diminuiscono l'efficienza di funzioni immunitarie dell'ospite, fornendo un vantaggio ai microorganismi co-infettanti. È stato infatti dimostrato che anaerobi obbligati, che si riscontrano frequentemente nelle piaghe croniche, inibiscono significativamente i leucociti polimorfonucleati, che non sono più in grado di distruggere i patogeni aerobi fagocitati (3).

Pertanto, il ruolo di interazioni sinergiche fra diversi microorganismi nella patogenesi dell'infezione delle piaghe croniche sembra essere clinicamente più determinante rispetto al coinvolgimento isolato di specifici agenti potenzialmente patogeni (5).

◆ Aspetti quantitativi

La determinazione numerica del numero di batteri presenti in una ferita ha un ruolo importante nella pratica clinica, in quanto diversi studi hanno dimostrato la sua attendibilità nel predire il rischio di infezione e la probabilità di guarigione (4). Attualmente si ritiene che la presenza di 10^5 o più batteri per grammo di tessuto sia un fattore importante per stabilire se a livello di una ferita o di una piaga siano in atto processi infettivi, e per determinare se la guarigione sia un evento più o meno probabile. Tuttavia, anche ferite con carica microbica superiore a 10^5 batteri per grammo di tessuto possono procedere a guarigione spontanea (3). D'altra parte, per eseguire questa determinazione quantitativa, è necessario effettuare una biopsia che, oltre ad essere traumatica per il paziente, non rappresenta una pratica routinaria. Bisogna anche considerare che la biopsia non sempre è in grado di indicare il reale stato microbiologico della lesione, soprattutto nel caso di lesioni estese in cui i microorganismi possono essere distribuiti in modo non omogeneo.

Per questi motivi sono state considerate anche tecniche di prelievo microbiologico non invasive, come il prelievo mediante tampone, che però consente solo una determinazione semiquantitativa, non essendo possibile determinare precisamente la quantità di materiale prelevata. Diversi studi

hanno dimostrato l'utilità di tale tecnica, rilevando strette correlazioni (quantitative e qualitative) fra analisi del tampone ed analisi della biopsia tissutale (4).

Riassumendo, sia gli aspetti quantitativi sia quelli qualitativi sono determinanti microbiologici critici per lo sviluppo di infezioni delle ferite in genere e delle piaghe croniche in particolare. La probabilità di infezione aumenta con l'aumentare della carica microbica, e si ritiene che valori superiori a 10^5 batteri/grammo di tessuto rappresentino la soglia oltre la quale sia più probabile lo sviluppo di processi infettivi. Comunque, è stato riportato che lo streptococco beta emolitico è in grado di causare infezione di ferite anche con cariche significativamente inferiori a 10^5 batteri per grammo di tessuto (8).

Per quanto riguarda gli aspetti qualitativi, è importante considerare la natura polimicrobica delle lesioni e le interazioni fra microorganismi diversi. In teoria, la presenza simultanea di *S. aureus* e di un batterio anaerobio potenzialmente patogeno è più dannosa che la presenza di una uguale carica totale del solo *S. aureus*.

COME E QUANDO ESEGUIRE UN ESAME COLTURALE

Spesso la decisione più importante è determinare quando eseguire l'esame colturale di una piaga cronica. In genere, la coltura dovrebbe essere eseguita solo dopo la diagnosi clinica, in quanto tutte le piaghe croniche sono contaminate e colonizzate.

Come descritto in precedenza, evidenze sempre maggiori suggeriscono che i dati qualitativi e semi-quantitativi ottenuti analizzando prelievi con tampone danno risultati simili a quelli ottenuti mediante l'analisi di biopsia. Per esempio, in uno studio sono stati ottenuti risultati simili con entrambe le modalità di prelievo (9). Le maggiori discordanze riguardavano la presenza di commensali comunemente isolati in piaghe colonizzate, che non costituiscono un bersaglio diretto per l'antibiotico-terapia. Inoltre, batteri non evidenziati dall'analisi del tampone non erano cruciali: per esempio la mancata identificazione di una specie di batterio anaerobio su tre presenti non altera la terapia antibiotica.

Un fattore importante che deve essere considerato in sede di prelievo microbiologico è se il paziente ha già ricevuto trattamenti con antimicrobici. In tal caso, l'analisi microbiologica del prelievo mediante tampone sarà influenzata significativamente dall'uso di disinfettanti ed altri agenti topici, mentre l'analisi della biopsia subirà maggiori influenze in caso di antibiotico terapia sistemica.

Nel caso di prelievo biotico, dopo la rimozione del tessuto devitalizzato e la pulizia della piaga, si preleva asetticamente un campione di tessuto, poi viene pesato, omogeneizzato, e, dopo opportune diluizioni, viene coltivato su terreni batteriologici selettivi e non selettivi, sia in condizioni aerobiche sia anaerobiche, in modo da ottenere informazioni quantitative e qualitative.

Quando la piaga presenti una sufficiente quantità di fluido, questo può essere prelevato direttamente mediante aspirazione. Questa tecnica di prelievo è utile sia nel caso di sacche di fluido sotto i detriti superficiali della piaga, sia nel caso di presenza di fluido purulento. Nel caso di lesioni cavitarie, come alcune piaghe da decubito, queste possono essere leggermente irrigate con soluzione fisiologica sterile e dopo un lieve massaggio si può prelevare il fluido per l'analisi microbiologica.

Nel caso di prelievo mediante tampone, si possono usare tamponi sia con la punta di cotone sia di alginato di calcio. L'uso dell'alginato fornisce il vantaggio che, dissolvendosi nel diluente appropriato, libererà tutti i microorganismi prelevati, consentendo una maggiore precisione nell'analisi semiquantitativa. L'aspetto più importante nell'esecuzione di un tampone per la successiva coltura è rappresentato dalla preparazione della ferita. La ferita dovrebbe essere lavata con soluzione fisiologica e sottoposta alla rimozione del tessuto devitalizzato, onde ottenere un migliore accesso al compartimento profondo della piaga. Il campionamento può essere eseguito semplicemente con movimento rotatorio ed ondulante, per prelevare batteri dalla maggiore area possibile. In alternati-

va, soprattutto nel caso di piaghe estese, si può focalizzare il prelievo sulla parte che presenta i maggiori segni di infezione.

Bisogna notare che il materiale prelevato con tampone è suscettibile ad essiccamento e l'esposizione prolungata all'ossigeno atmosferico inibisce la vitalità dei microorganismi anaerobi. Pertanto, appena eseguito il prelievo, il campione dovrebbe essere posto subito in opportuno terreno di trasporto e consegnato quanto prima al laboratorio. È importante che il campione sia fornito delle opportune descrizioni (tipo di prelievo, tipo e localizzazione della piaga, segni clinici di infezione, eventuale terapia antimicrobica ecc.), affinché le indagini siano subito indirizzate nel modo migliore. Solo a titolo di esempio, una piaga da decubito in posizione sacrale sarà probabilmente colonizzata da batteri enterici. È sempre preferibile e maggiormente attendibile analizzare un prelievo biotico in luogo di un semplice tampone.

L'analisi batteriologica del prelievo normalmente prevede l'uso di terreni di coltura selettivi e non selettivi, oltre che per lieviti. Dopo incubazione in condizioni sia di aerobiosi sia di anaerobiosi, e l'isolamento delle specie presenti, si possono eseguire le determinazioni qualitative e semiquantitative. Per indicare la carica microbica totale può essere sufficiente utilizzare anche una scala arbitraria (1+ lieve crescita, 4+ crescita molto abbondante). Bisogna comunque notare che molti batteri anaerobi richiedono tempi di crescita maggiori (2-5 giorni), per cui le colture dopo 48 ore di incubazione possono essere falsamente negative. Infine, dovrebbe essere eseguito l'antibiogramma, sia indiretto (sulle colture pure, o del microorganismo più abbondante) sia diretto (sulla coltura mista).

Il dialogo continuo ed approfondito fra microbiologo e clinico è importante, in quanto consente di ottimizzare le procedure e di ottenere i risultati più attendibili. In pratica, l'analisi solo delle piaghe infettate o di quelle particolarmente resistenti alla guarigione consentirà di diminuire il carico di lavoro e di procedere con maggiore velocità all'esecuzione dei tests necessari. D'altra parte, la presenza di *S. aureus* isolato da una coltura batterica mista proveniente da un'ulcera clinicamente non infetta non richiede l'esecuzione di un antibiogramma.

RUOLO DEGLI ANTIMICROBICI

Il ruolo degli agenti antimicrobici nella terapia delle ulcere croniche deve essere ancora definito con precisione. L'incertezza è dovuta al fatto che non è ancora chiaro fino a che punto la presenza di batteri, in assenza di segni clinici di infezione, sia un fattore importante che impedisca la guarigione. C'è tuttora un ampio dibattito sulle modalità di trattamento delle ulcere croniche infettate. L'antibiotico terapia sistemica è essenziale nel caso di infezioni cutanee in evidente evoluzione, o può essere considerata come possibilità di intervento nel caso in cui le conseguenze dell'infezione possono essere particolarmente dannose (per esempio ulcere infettate alle estremità inferiori dei pazienti diabetici possono dare luogo a gangrena e amputazione, e ulcere da decubito infettate possono originare setticemia o osteomielite). D'altra parte, ulcere che hanno solo segni localizzati di infezione o che pur non essendo infettate sono pesantemente colonizzate possono essere trattate inizialmente con agenti topici.

◆ Antibiotici

Gli antibiotici somministrabili per via sistemica sono principalmente penicilline, cefalosporine, aminoglicosidici e chinoloni. Altri antibiotici che possono essere usati sono clinamicina, metronidazolo e trimethoprim.

Le *penicilline* svolgono la loro azione inibendo la sintesi ed il cross-linking del peptidoglicano, componente fondamentale della parete batterica. Le penicilline ad ampio spettro (ampicillina, amoxicillina) sono attive sia su Gram-positivi sia su alcuni Gram-negativi, ma sono inattivate da penicillinasi prodotte da *S. aureus* e da *E. coli*.

Le *cefalosporine* hanno lo stesso meccanismo d'azione delle penicilline, ma hanno un più ampio spettro antibatterico, sono resistenti a molte beta-lattamasi ed hanno migliori proprietà farmacocinetiche.

Gli *aminoglicosidi* (per esempio gentamicina) interferiscono con la sintesi proteica, legandosi irreversibilmente ai ribosomi batterici. Hanno un ampio spettro d'azione, ma sono potenzialmente nefrotossici ed ototossici.

I *chinoloni* (per esempio ciprofloxacina) inibiscono la sintesi di DNA batterico e sono attivi sia sui Gram-positivi che sui Gram-negativi.

La *clindamicina* è attiva verso i cocci gram-positivi, compresi stafilococchi penicillino-resistenti, ed anche verso bacilli gram-negativi anaerobi. Agisce legandosi ai ribosomi batterici e bloccando l'allungamento della proteina in via di formazione.

Il *metronidazolo* è efficace contro i batteri anaerobi, ed agisce sugli acidi nucleici, sia inibendone la sintesi sia provocando la degradazione del DNA già formato.

Il *trimethoprim* inibisce la sintesi dell'acido folico, impedendo la formazione di basi azotate (necessarie per la sintesi del DNA) e di alcuni aminoacidi.

◆ **Trattamento con antibiotici delle ulcere croniche**

La maggior parte delle ulcere croniche presentano un'infezione polimicrobica aerobica ed anaerobica, quindi il trattamento di maggior successo delle ulcere infettate è generalmente costituito dall'utilizzo di agenti antimicrobici ad ampio spettro, sia da soli sia in associazione.

In particolare, la presenza di batteri anaerobi in ulcere ai piedi di pazienti diabetici è stata associata a maggiore probabilità di sviluppare febbre, di propagazione dell'infezione ai tessuti profondi ed alla necessità di amputazione (10). Pertanto, l'eliminazione dei soli anaerobi potrebbe teoricamente avere effetti positivi. A questo riguardo è stato dimostrato che il metronidazolo, inibendo la componente aerobica, elimina il blocco della fagocitosi, facilitando l'eliminazione degli altri batteri (4, 7). Quindi, in via teorica, il trattamento di ulcere croniche con antibiotici specifici per batteri anaerobi elimina il sinergismo polimicrobico e stimola l'up-regolazione delle difese dell'ospite. Tuttavia, questo meccanismo d'azione non è stato ancora clinicamente provato, e sono necessari ulteriori studi per valutare l'effetto indiretto sulla flora microbica del trattamento con metronidazolo.

Per quanto riguarda le ulcere da decubito, le Linee guida della *European Pressure Ulcer Advisory Panel* raccomandano di non utilizzare antibiotici per via sistemica per trattare ulcere che manifestano solo segni locali di infezione (11, 12). Dal momento che sia le ulcere venose che le ulcere del diabetico presentano una microflora simile a quella delle ulcere da decubito, è stato proposto che tale consiglio possa essere esteso anche a questo tipo di lesioni (A). In assenza di chiari segni di coinvolgimento sistemico (cellulite progressiva, batteriemia, febbre e dolore ecc.) il trattamento più utile è costituito dall'uso topico di agenti antimicrobici (antibiotici ed antisettici). D'altra parte, se dopo due settimane di trattamento topico non si evidenzia alcun miglioramento, è probabile che l'ulteriore terapia non dia alcun beneficio. In tal caso, bisogna considerare l'opportunità di usare agenti topici alternativi.

L'utilizzo di antibiotici topici ad ampio spettro è consigliato in quanto si hanno alte concentrazioni di farmaco direttamente a livello della lesione, si eliminano i rischi di reazioni allergiche sistemiche e non vengono alterate le popolazioni di batteri endogeni commensali. La probabilità di successo della terapia antibiotica topica può essere compromessa dalla presenza di tessuto ischemico o necrotico, che può limitare la distribuzione tissutale e l'efficacia terapeutica del farmaco. Di solito le preparazioni topiche comprendono antibiotici che per via sistemica avrebbero effetti tossici. Combinazioni di bacitracina, polimixina B e neomicina forniscono un opportuno spettro di attività. Altri agenti topici, utilizzati soprattutto per trattare infezioni da *S. aureus* sono la mucipurina e l'acido fusidico. Inoltre, l'uso locale del metronidazolo facilita l'eliminazione del cattivo odore, spesso causato dai batteri anaerobi.

L'antibiotico terapia sistemica andrebbe considerata solo nel caso in cui si manifestino segni clinici di infezione, e dovrebbe essere mirata in seguito ai risultati delle indagini microbiologiche. Dal punto di vista clinico, mancano studi controllati che dimostrano l'efficacia di specifici protocolli di somministrazione sistemica di antibiotici per il trattamento delle ulcere croniche infettate da popolazione polimicrobica. In particolare, nel caso di gravi infezioni al piede in pazienti diabetici, non sempre è possibile aspettare i risultati delle indagini microbiologiche. In tali casi, è consigliabile utilizzare antibiotici a largo spettro, attivi su Gram-positivi e su Gram-negativi, che coprano anche i microorganismi anaerobi. La terapia può essere cambiata in un secondo tempo, sulla base delle indicazioni della coltura, o se non si verificano risposte cliniche. Fra i trattamenti proposti, si possono menzionare amoxicillina + acido clavulonico, e ciprofloxacina + clindamicina, ampicillina + sulfabactam, o ticarcillina + acido clavulonico (13), e imipenem (14).

Anche per l'eventuale trattamento sistemico in caso di infezione di ulcere da decubito, è opportuno utilizzare antibiotici a largo spettro, quali imipenem, cefalosporine, ciprofloxacina (14).

Per le ulcere venose sono stati utilizzati cotrimossazolo (trimetoprim e sulfametossazolo) (15) e ciprofloxacina + trimetoprim (16), ma non si sono ottenuti risultati particolarmente significativi.

Deve comunque essere tenuto presente che tali indicazioni derivano da un numero limitato di studi, e dovrebbero essere confermate da indagini cliniche eseguite su casistiche più ampie.

◆ **Agenti topici**

Gli agenti topici includono antisettici e disinfettanti. Con questi due termini si indicano classi di sostanze, parzialmente coincidenti, che distruggono i microorganismi e ne limitano la crescita. Le due classi di composti non hanno una definizione universalmente accettata, e sono diverse le definizioni che sono state proposte. In genere, gli antisettici sono utilizzati solo su tessuti viventi, mentre i disinfettanti vengono utilizzati anche per decontaminare strumenti e superfici.

Le preparazioni topiche possono essere divise in due categorie, a seconda della loro funzione. Un gruppo è formato da lozioni con attività antimicrobica, utilizzate per irrigare e pulire le ferite. Di solito hanno solo un breve periodo di contatto con la superficie della ferita, e comprendono ipocloriti, esaclorofene, permanganato di potassio e violetto di genziana. Il secondo gruppo consiste di preparazioni formulate per stare a contatto con la superficie dell'ulcera per periodi di tempo più lunghi, generalmente fino alla medicazione successiva. Questo gruppo comprende preparati a base di argento (sulfadiazina argantica). Alcuni prodotti, disponibili in formulazioni diverse, possono essere considerati appartenenti ad entrambe le categorie. Comprendono povidone-iodio, clorexidina, benzoin-perossido. Gli antibiotici possono essere utilizzati anche per applicazioni topiche e comprendono principalmente mupirocina, acido fusidico, neomicina, il cui meccanismo di azione consiste nell'inibire la sintesi proteica batterica.

Gli antisettici, essendo sostanze chimiche potenzialmente tossiche sia al batterio sia alle cellule dell'ospite, hanno un uso limitato alle applicazioni topiche. Gli agenti usati più comunemente nel trattamento delle ulcere croniche sono agenti che rilasciano iodio (povidone-iodio e cadexomero iodico), soluzioni che rilasciano cloro (ipoclorito sodico e soluzione Dakin), perossido di idrogeno, clorexidina, agenti che rilasciano argento, acido acetico. In termini di efficacia, l'acido acetico (1%) ha attività limitata, ma viene utilizzato con successo nel caso di ferite colonizzate con *Pseudomonas aeruginosa* (17). Gli agenti che rilasciano argento (per esempio sulfadiazina argantica) sono stati usati sia nel trattamento di *P. aeruginosa* sia per controllare gli altri batteri comunemente trovati in ferite (18). Le sostanze a base di iodio sono quelle comunemente più impiegate, in quanto più potenti e con un maggiore spettro di azione.

CONCLUSIONI

La maggior parte delle ulcere croniche presenta una microflora polimicrobica, costituita sia da aerobi sia da anaerobi. La presenza di batteri indica la colonizzazione dell'ulcera, e non necessariamente la presenza di un processo infettivo.

La progressione di un'ulcera dallo stato colonizzato a quello infettato non può essere predetta dalla presenza di uno specifico patogeno, in quanto la patogenesi è influenzata da diversi fattori. I determinanti maggiori di infezione sono rappresentati dalla densità della popolazione microbica, dalle diverse specie di microorganismi presenti e dalle possibili loro interazioni sinergiche, dalle risposte dell'ospite e dalle condizioni generali del tessuto. Quindi, l'eventuale trattamento non deve essere finalizzato all'eliminazione di un singolo patogeno, ma deve coprire un ampio numero di microorganismi ed impedirne le interazioni sinergiche.

Gli studi clinici hanno dimostrato che la carica microbica tissutale è associata al possibile sviluppo di infezione. Il prelievo biotico, necessario per la determinazione quantitativa, ha scarsa possibilità di impiego nel caso di ulcere croniche, sia per la necessità di utilizzare pratiche chirurgiche sia per la traumaticità per il paziente. Il prelievo mediante tampone, anche se presenta alcune limitazioni, dovute sia alla quantificazione non precisa sia al prelievo di batteri soprattutto dagli strati più superficiali dell'ulcera, rappresenta probabilmente la migliore possibilità di campionamento. In ogni caso, le indagini microbiologiche vanno eseguite solo in presenza di lesioni con evidenze cliniche di infezione, o che si siano dimostrate particolarmente recidive.

Da un punto di vista pratico, il controllo del carico microbico nelle ulcere può minimizzare lo sviluppo successivo di infezioni, mediante l'uso topico di antibiotici e di antisettici. Anche se gli antibiotici somministrati topicamente hanno una tossicità selettiva per i batteri (con poche conseguenze a carico delle cellule dell'ospite), possono selezionare lo sviluppo di resistenze batteriche, e per queste ragioni si tende a preferire l'utilizzo di antisettici. Tuttavia, l'uso prolungato di antisettici può compromettere la vitalità tissutale quindi danneggiare il processo di guarigione indotto dall'attività antimicrobica.

Tabella 1

Batteri isolati da piaghe croniche, senza manifestazioni cliniche di infezione. (modificata da A)

Aerobi obbligati e facoltativi	Anaerobi
Stafilococchi coagulasi-negativi <i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Peptostreptococcus sp. P. anaerobius, P. magnus, P. micros, P. prevotii, P. indolicus P. asaccharolyticus</i>
Streptococchi beta-emolitici <i>Streptococcus spp.</i>	<i>Clostridium perfringens, C. difficile, C. baratii, C. cadaveris, C. ramosum C. hystoliticum, C. sporogenes</i>
<i>Micrococcus sp.</i>	<i>Eubacterium limosum</i>
<i>Corynebacterium sp., C. xerosis</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacteroides fragilis, B. ureolyticus, B. uniformis, B. stercoris, B. capillosus</i>
<i>Serratia liquefaciens</i>	<i>Prevotella oralis, P. oris, P. biviae, P. buccae, P. corporis, P. melaninogenica</i>
<i>Klebsiella pneumoniae, K. oxytoca</i>	<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>
<i>Enterobacter cloacae, E. aerogenes</i>	Bacilli pigmentati gram-negativi
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Fusobacterium necrophorum</i>
<i>Proteus mirabilis, P. vulgaris</i>	
<i>Providencia stuarti</i>	
<i>Morganella morganii</i>	
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
<i>Sphingobacterium multivorum</i>	

Tabella 2

Alcuni fattori di virulenza batterici associati all'infezione di piaghe croniche

Microorganismo	Fattore	Effetto
Streptococcus pyogenes	Ialuronidasi	Degrada l'ac. Ialuronico, costituente Staphylococcus aureus fondamentale del connettivo, e facilita la diffusione del batterio
Pseudomonas aeruginosa	Fosfolipasi	Degrada lipidi e lecitina, facilitando la distruzione tissutale
Pseudomonas aeruginosa	esotossina A	Blocca la sintesi proteica nelle cellule eucariotiche
Staphylococcus aureus	esotossina epidermolitica	Esfoliazione dell'epidermide
Clostridium ssp	Lecitinasi	idrolisi dei lipidi della membrana cellulare
	Collagenasi	idrolisi del collagene connettivale

BIBLIOGRAFIA

1. Hunt T.K., and Hopt H.W., 1997. *Wound healing and wound infection-what surgeons and anesthesiologists can do*. Surg. Clin. North Am. 77: 587-606.
2. Sheffield P.J., *Tissue oxygen measurements*, p. 17-51. In J.C. Davis and T.K. Hunt (ed.), *Problem wounds. The role of oxygen*. Elsevier, New York, N.Y., 1988.
3. Dow G., *Bacterial Swabs and the Chronic Wound: When, How, and What Do They Mean*, Ostomy/Wound Management 49: 8-13, 2003.
4. Bowler P.G., Duerden B.I. and Armstrong D.G., *Wound microbiology and associated approaches to wound management*. Clin. Microbiol. Reviews. 14: 244-269, 2001.
5. Bowler P.G. and Davies B.J., *The microbiology of infected and noninfected leg ulcers*. Int J. Dermatol, 38: 101-106, 1999.
6. Trengove N.J., Stacey M.C., McGeachie D.F. and Mata S., *Qualitative bacteriology and leg ulcer healing*. J Wound Care 5: 277-280, 1996.
7. Ingham H.R., Tharagonnet D., Sisson P.R. and Selkon J.B., *Inhibition of phagocytosis in vitro by obligate anaerobes*. Lancet 11: 1252-1254, 1977.
8. Robson M.C. and Heggers J.P., *Delayed wound closures based on bacterial counts*. J. Surg. Oncol. 2: 379-383, 1970.
9. Wheat L., Allen S., Henry M., Kernek C., Siders J., Kuebler T., Fineberg N., Norton J. *Diabetic foot infections: bacteriologic analysis*. Arch Intern Med., 146: 1935-1940, 1986.
10. Goldstein E.J.C., *Selected nonsurgical anaerobic infections: therapeutic choices and the effective armamentarium*. Clin. Infect. Dis. 18: S273-S279, 1994.
11. European Pressure Ulcer Advisory Panel. *Guidelines on treatment of pressure ulcers*. EPUAP Rev. 1: 31-33, 1999.
12. <http://www.epu@p.org//glreatment.html>
13. <http://www.globalrph.com/antibiotic/foot.htm>
14. Romanelli M., Magliaro A., Mastronicola D., Siani S., *Systemic Antimicrobial Therapies for Pressure Ulcers*. Ostomy/Wound Management 49: 25-29, 2003.
15. Alinovi A., Bassissi P., Pini M., *Systemic administration of antibiotics in the management of venous ulcers. A randomized clinical trial*. J Am Acad Dermatol. 15: 186-91, 1986.
16. Huovinen S., Kotilainen P., Jarvinen H., Malanin K., Sarna S., Helander I., Huovinen P., *Comparison of ciprofloxacin or trimethoprim therapy for venous leg ulcers: results of a pilot study*. J Am Acad Dermatol. 31: 279-81, 1994.
17. Phillips D., Davey C., *Wound cleansing versus wound disinfection: a challenging dilemma*. Perspectives 21: 15-16, 1997.
18. Marone P., Monzillo V., Perversi L., Carretto E., *Comparative in vitro activity of silver sulphadiazine, alone and in combination with cerium nitrate, against staphylococci and gram-negative bacteria*. J Chemother. 10: 17-21, 1998.