

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI GENOVA

SCUOLA DI SCIENZE MEDICHE E FARMACEUTICHE

Corso di laurea magistrale a ciclo unico in Medicina e Chirurgia



“Studio di coorte in pazienti con tubercolosi polmonare
nell’area metropolitana di Genova anni 2016-2019”

Relatore:

*Prof.ssa Malgorzata Karolina
Mikulska*

Correlatore:

Prof. Antonio Di Biagio

Candidato:

Anna Dibari

Anno accademico 2019-2020

Sommario

ABSTRACT	3
1. TUBERCOLOSI.....	4
1.1 INTRODUZIONE E STORIA	4
1.2 AGENTE EZIOLOGICO	6
1.3 EPIDEMIOLOGIA.....	8
1.3.1 Incidenza e Prevalenza	8
1.3.2 Mortalità	10
1.3.3 <i>M. tuberculosis</i> e fattori di rischio	10
1.3.3.1 Tubercolosi e Diabete Mellito.....	11
1.3.3.2 Tubercolosi e HIV.....	12
1.3.4 Farmacoresistenza	13
1.3.5 La casistica in Italia	14
1.4 MODALITÀ DI INFEZIONE	15
1.5 PATOGENESI	16
1.6 SINTOMATOLOGIA CLINICA.....	17
1.6.1 Infezione primaria.....	18
1.6.2 Tubercolosi primaria	19
1.6.3 Tubercolosi postprimaria	20
1.6.3.1 Complicanze della tubercolosi postprimaria	24
1.6.3 Tubercolosi extrapolmonare	25
1.7 DIAGNOSI	30
1.8 TECNICHE FENOTIPICHE E GENOTIPICHE DI RILEVAZIONE DELLE RESISTENZE FARMACOLOGICHE DI <i>M. TUBERCULOSIS</i>	34
1.9 TERAPIA	35
1.9.1 Farmaci di prima e seconda linea e relative tossicità	35
1.9.2 Posologia.....	37
1.9.3 Monitoraggio durante il trattamento.....	40
1.9.4 Schemi di trattamento in pazienti con tubercolosi farmaco resistente	41
1.9.5 Schemi di trattamento in pazienti HIV positivi.....	43
1.9.6 Trattamento chirurgico della tubercolosi.....	44
1.10 PREVENZIONE	44
2. MATERIALI E METODI	46
2.1 SCOPO DELLO STUDIO.....	46
2.2 MATERIALI E METODI	46
3. RISULTATI	50
3.1 PAZIENTI CON TUBERCOLOSI RICOVERATI E SEGUITI NEGLI ANNI 2016-2019 PRESSO LA CLINICA DI MALATTIE INFETTIVE DELL'OSPEDALE POLICLINICO SAN MARTINO	50
3.1.2 Caratteristiche della diagnosi microbiologica e delle resistenze nei pazienti con tubercolosi esclusivamente polmonare.....	58
3.2 CONFRONTO DEI PAZIENTI CON TUBERCOLOSI RICOVERATI E SEGUITI PRESSO L'OSPEDALE POLICLINICO SAN MARTINO NEGLI ANNI 2016-2019 VERSUS ANNI 2000-2015.....	61
3.3 CARATTERISTICHE DEI PAZIENTI CON TUBERCOLOSI DOCUMENTATA MICROBIOLOGICAMENTE RICOVERATI E SEGUITI NEGLI ANNI 2016-2019 PRESSO GLI ALTRI OSPEDALI LIGURI	72
4. DISCUSSIONE	78
5. CONCLUSIONI	82
RINGRAZIAMENTI	83
BIBLIOGRAFIA.....	85

Abstract

INTRODUZIONE: La tubercolosi è la prima causa di morte per singolo agente infettivo nel mondo, con numero di casi in Europa in costante riduzione. L'insorgenza di ceppi farmaco resistenti rende più difficoltoso il trattamento e il controllo della malattia tubercolare.

Obiettivo di questo studio è la valutazione delle caratteristiche dei pazienti con tubercolosi seguiti presso la Clinica di Malattie Infettive del Policlinico San Martino di Genova negli anni 2016-2019.

PAZIENTI E METODI: Sono stati raccolti i dati clinici di tutti i pazienti con la tubercolosi, poi confrontati con i dati relativi agli anni 2000-2015. Sono stati analizzati i dati dei pazienti provenienti da ospedali liguri diversi dal San Martino per cui sono risultati positivi i campioni inviati presso il laboratorio del Policlinico, soprattutto per la valutazione delle resistenze.

RISULTATI: Sono stati inclusi 134 pazienti: età mediana 40 anni, 70,1% maschi, 50% caucasici (di cui 83,8% di nazionalità italiana), 4,4% con HIV. Dal 2012 al 2019 in numero di casi è rimasto stabile, con una mediana di 35,5 casi all'anno. La localizzazione polmonare rimane la più frequente (67,9%), con un aumento delle localizzazioni extrapolmonari rispetto al gruppo 2000-2015 (43,3% vs 29,1%), soprattutto tra i non caucasici. Il 56% dei pazienti sono guariti, 6% deceduti e 32,1% persi al follow-up. Non è stata rilevata una correlazione tra l'etnia o la nazionalità e la compliance al trattamento. La resistenza ad INH era di 10,8%, a rifampicina 2,6%, con farmacoresistenza totale in riduzione rispetto alla coorte 2000-2015 (10,5% vs. 20,2), ma più elevata rispetto alla coorte di 160 pazienti provenienti da altri ospedali liguri (6,9%).

CONCLUSIONI: La tubercolosi rimane un problema costante, ripartito equamente tra l'etnia caucasica e non. I problemi principali nella gestione dei pazienti sono legati non tanto alla farmacoresistenza quanto alla perdita al follow-up.

1. Tuberculosis

1.1 Introduzione e storia

La tubercolosi (TB) è una malattia infettiva causata da *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*), che appartiene al *Mycobacterium tuberculosis complex* (MTBC).¹ Essa costituisce una delle prime dieci cause di morte nel mondo e la prima causa di morte per singolo agente infettivo, avendo superato persino l'HIV.²

Si pensa che i batteri appartenenti al *M. tuberculosis complex* siano originati circa 20'000-35'000 anni fa da un progenitore comune, *Mycobacterium protubercolosis*, nell'Africa orientale e da qui si siano diffusi nel mondo seguendo le migrazioni dell'uomo.³ (Figura 1)

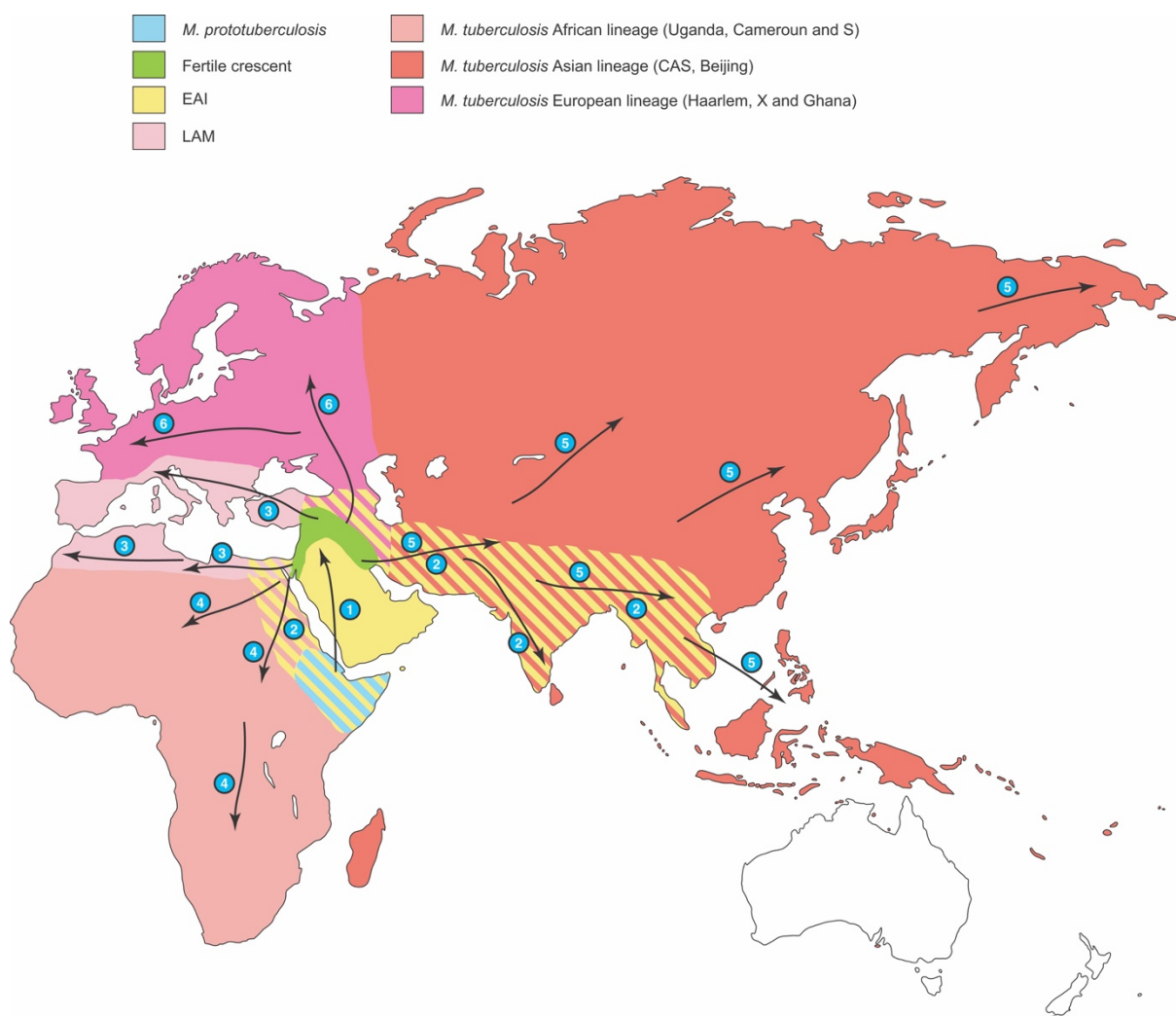


Figura 1- Origine e diffusione del *Mycobacterium tuberculosis complex*.⁴

A dimostrazione di ciò sono state rinvenute alterazioni scheletriche tipiche della malattia di Pott sia nelle mummie egiziane sia in quelle peruviane e il DNA di *M. tuberculosis* è stato isolato dal tessuto mummificato.⁵

La tubercolosi era già conosciuta nell'Antica Grecia, come dimostrano i riferimenti presenti nelle *Epidemie, libro I* di Ippocrate dove viene definita "phthisis" (da phthien, consumarsi); dopo di lui anche Galeno trattò l'argomento, raccomandando aria fresca, latte e soggiorni presso città sulle coste come trattamento per la malattia.⁵ Egli per primo sospettò la natura contagiosa della phthisis, mentre tutti i suoi predecessori, incluso Ippocrate, avevano sostenuto che essa avesse un carattere ereditario.³ Il carattere infettivo della malattia venne però confermato solo nel 1865 quando Jean-Antoine Villemin inoculò un coniglio con del liquido purulento prelevato da una cavità tubercolare durante l'autopsia di un individuo morto per tubercolosi. L'autopsia del coniglio dimostrò infatti una tubercolosi estesa, nonostante il coniglio fosse apparentemente sano.⁵

Nel 1882 Robert Koch riuscì a isolare microscopicamente il bacillo tubercolare, denominato poi "bacillo di Koch" (BK), e a dimostrare quindi l'eziologia della patologia. Nel 1890 Koch ottenne inoltre un estratto del bacillo tubercolare, la tubercolina, e tentò di utilizzarla per curare la malattia. Tuttavia, questo approccio terapeutico si rivelò fallimentare e l'utilizzo della tubercolina venne quindi abbandonato fino al 1908, quando Mendel e Mantoux misero a punto il test di intradermoreazione alla tubercolina (TST), che fu da allora utilizzato per la diagnosi della malattia.³

Alla fine del XIX secolo, a causa dell'aumento della popolazione nelle aree urbane, dell'aumento della migrazione e degli scambi economici, il 70-90% della popolazione dell'Europa e del Nord America era affetto da tubercolosi e l'80% dei soggetti con tubercolosi attiva andava incontro a morte. Nonostante si fosse acquisita una maggiore conoscenza della malattia non esistevano infatti terapie efficaci per curare l'infezione. Fu così che nel 1859 nacque a Gomersdorf (Germania) il primo sanatorio, una struttura in cui i pazienti venivano isolati dalla società e trattati con riposo, esposizione all'aria fresca e ai raggi solari, adeguate nutrizione e igiene. Dai dati emerge che, nonostante i sanatori portassero un beneficio psicologico ai pazienti che vi risiedevano, la mortalità era sovrapponibile a quella dei malati che rimanevano nelle loro case.³

L'incidenza della tubercolosi calò drasticamente dopo il 1921, quando Albert Calmette e Camille Guérin riuscirono ad attenuare un ceppo di *M. bovis* per usarlo come un vaccino (BCG).⁵

Tuttavia, solo con la scoperta della Streptomina nel 1944 la malattia iniziò ad essere trattata farmacologicamente. Nei due decenni successivi vennero poi introdotti nella terapia nuovi farmaci: isoniazide (1952), pirazinamide (1954), etambutolo (1962) e rifampicina (1963). Con l'avvento della terapia farmacologica si assistette inoltre al

declino della terapia chirurgica, praticata fin dal 1821 e basata sul collasso e sulla resezione polmonare.³

Grazie al miglioramento delle condizioni igienico-sanitarie, all'introduzione di farmaci efficaci e delle norme profilattiche, l'incidenza della tubercolosi andò diminuendo fino al 1980, quando aumentò nuovamente in corrispondenza della pandemia di HIV e della comparsa della resistenza agli antibiotici.⁶

1.2 Agente eziologico

Mycobacterium tuberculosis appartiene alla famiglia *Mycobacteriaceae*, ordine Actinomycetales.⁶ Fa parte del MTBC che comprende diverse specie di *Mycobacterium*, le quali si differenziano per tropismo, fenotipo e patogenicità.¹ Le più importanti per l'uomo sono *M. tuberculosis* e *M. bovis*, mentre *M. canettii* e *M. africanum* sono stati isolati solo in alcune regioni dell'Africa; tra le altre, *M. microti* infetta principalmente roditori, *M. caprae* capre e pecore e *M. pinnipedi* foche e leoni marini.¹

M. tuberculosis è un batterio debolmente Gram-positivo ed appare al microscopio ottico come un bastoncino immobile, di piccole dimensioni (1-4 x 0,3-0,6 µm) e privo di ciglia.⁶

Una caratteristica particolare dei micobatteri è la struttura della parete cellulare, responsabile della scarsa permeabilità alla maggior parte degli antibiotici e dell'alcol-acido-resistenza, che viene evidenziata con la colorazione di Ziehl-Neelsen, fondamentale per la diagnosi microscopica.⁶

La parete cellulare (Figura 2) è formata da una membrana esterna e da un sottile strato di peptidoglicano interno. La membrana esterna è costituita da un doppio strato lipidico asimmetrico, formato nella parte interna da acidi grassi a lunga catena, gli acidi micolici, e in quella esterna da glicolipidi e cere.⁷

Il peptidoglicano si trova nello spazio periplasmico, delimitato verso l'esterno dalla membrana esterna e verso l'interno da quella citoplasmatica; esso è legato covalentemente al lipoarabinomannano e all'arabinogalattano, a loro volta legati agli acidi micolici.⁷ Il complesso micol-arabinogalattano-peptidoglicano (mAGP) è denominato *core* della parete cellulare.⁸ Molti farmaci usati nel trattamento del *M. tuberculosis* agiscono sul complesso mAGP.⁹

Intercalate nell'ambiente lipidico della parete si trovano molecole implicate nell'interazione del micobatterio con il sistema immunitario, quali sulfolipidi (SLs), fattore cordale, lipomannano (LM), lipoarabinomannano (LAM), lipidi contenenti

ftiocerolo (DMI) e fosfatidilinositolomannosidi (PIMs).⁸⁻⁹ Oltre a ciò, il lipoarabinomannano favorisce la sopravvivenza del micobatterio all'interno dei macrofagi.⁶

All'esterno della parete cellulare si trova la capsula, costituita principalmente da polisaccaridi (α -glucano, arabinomannano e mannano) e proteine. Sono invece presenti solo in piccola percentuale (1-6%) i lipidi.¹⁰

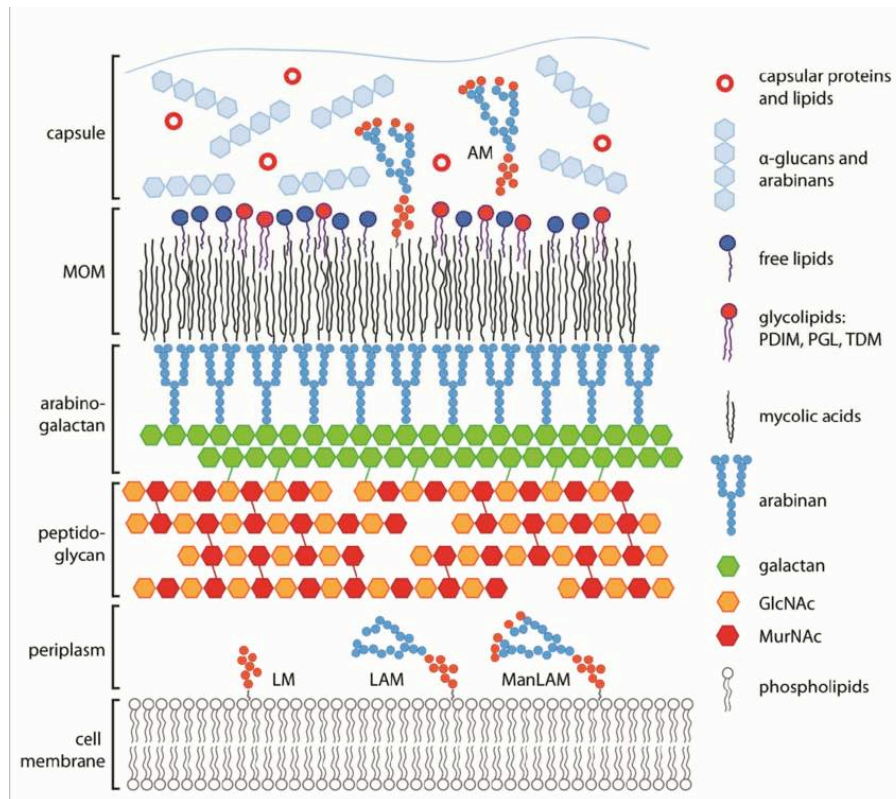


Figura 2 - Parete cellulare del *M. tuberculosis*.¹¹ MOM = mycobacterial outer membrane, LM = lipomannan, AM = arabinomannan, LAM = lipoarabinomannan, ManLAM = mannose-capped LAM, GlcNac = N-acetyl-glucosamine, MurNac = N-acetyl-muramic acid

Il sistema di secrezione proteica di *M. tuberculosis* è uno dei fattori principali nel determinare la sua virulenza: sono stati identificati cinque sistemi di secrezione, facenti parte del T7SS (Type VII Secretion System) e chiamati ESX1-5. ESX1 secerne antigeni che degradano la membrana del fagosoma nel citoplasma dei macrofagi, permettendo così a *M. tuberculosis* di traslocare nel citosol. Inoltre, secerne ESAT-6 e CFP-10, due piccole proteine immunogeniche che sono alla base della diagnosi di infezione da *M. tuberculosis* con l'Interferon-Gamma Release Assays (IGRAs). Poiché ESX1 non è espresso nel ceppo attenuato di *M. bovis* che costituisce il vaccino BCG, l'IGRAs non si positivizza nei soggetti vaccinati, come invece accade con il TST. ESX3 permette l'internalizzazione nel citoplasma di ferro e zinco ed è dunque essenziale per la crescita di *M. tuberculosis*. Il

ruolo di ESX2 ed ESX4 è tuttora sconosciuto, mentre ESX5 è coinvolto nella secrezione di proteine con proprietà immunomodulatorie.⁷

Un altro gruppo di proteine importanti nella patogenesi della malattia, poiché responsabili della risposta del microrganismo all'ipossia, è controllato dal sistema DosR (dormancy survival regulon). Questo programma genetico è indotto da un ambiente ipossico e povero di nutrienti: in queste condizioni blocca la replicazione dei bacilli, attivando il metabolismo anaerobio e inducendo così uno stato di latenza.¹²

M. tuberculosis cresce molto lentamente e solo su terreni arricchiti con sostanze complesse. Sono comuni i terreni arricchiti con tuorlo d'uovo, quali i terreni solidi di Lowenstein-Jensen (uova, glicerolo, sali, patata e verde malachite) e di Petraghani (uova, latte, patata, glicerolo e verde malachite). Tuttavia, oggigiorno si preferiscono i mezzi liquidi come BACTEC – *mycobacterial growth indicator tube* -MGIT, poiché consentono una crescita più rapida (7-21 giorni) e sono più adeguati ad effettuare test di sensibilità ai farmaci.⁶

Il BK è aerobio stretto, infatti gli organi più frequentemente colpiti nelle disseminazioni metastatiche sono quelli dove la PO₂ è più elevata, come gli apici polmonari e i reni. È un batterio sensibile al calore, soprattutto umido (è ucciso in pochi minuti in autoclave a 120 °C), ed ha un optimum di temperatura a 37 °C. Riesce invece a sopravvivere per diversi giorni a -4 °C e per mesi a -75 °C. Ha una marcata resistenza all'essiccamento, soprattutto se al riparo dai raggi UV, agli acidi e agli alcali.⁶

1.3 Epidemiologia

1.3.1 Incidenza e Prevalenza

Attualmente circa un quarto della popolazione mondiale è infettato da *M. tuberculosis*: ogni individuo infetto ha un rischio del 5-10% di sviluppare la malattia durante tutta la propria vita.² Al contrario, tra le persone infettate anche da HIV il rischio di passare dall'infezione tubercolare alla malattia tubercolare è molto più elevato (10% all'anno).¹³

Ci sono poi altri fattori che aumentano il rischio di sviluppare la malattia tubercolare, come fumo di sigaretta, diabete mellito, povertà e condizioni abitative, malnutrizione.²

Secondo una stima dell'OMS (Organizzazione Mondiale della Sanità), nel 2018 circa 10 milioni di persone nel mondo sono state infettate da *M. tuberculosis*. Questa cifra ha un'estrema variabilità tra i diversi paesi, con una media di 130 nuovi casi ogni 100'000 abitanti l'anno. La maggior parte dei casi sono stati registrati nel Sud-Est Asiatico (44%), in Africa (24%) e nel Pacifico Occidentale (18%), mentre solo l'8% dei casi è stato

registrato nel Mediterraneo Orientale, il 3% in Europa e un ulteriore 3% nelle Americhe. Soltanto 8 paesi erano responsabili dei 2/3 del totale: India (27%), Cina (9%), Indonesia (8%), Filippine (6%), Pakistan (6%), Nigeria (4%), Bangladesh (4%) e Sud Africa (3%).² (Figura 3)

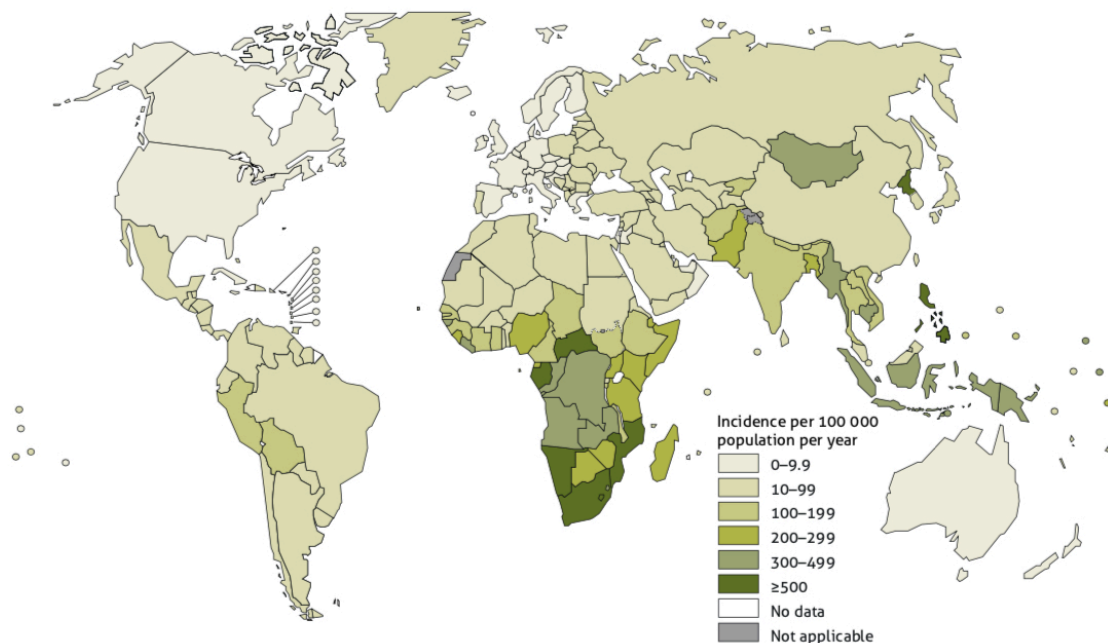


Figura 3- Incidenza stimata della tubercolosi nel 2018.²

Si stima che nel 2018 l'8,6% dei nuovi casi di tubercolosi abbia riguardato soggetti già HIV-positivi e che la prevalenza della coinfezione TB/HIV abbia superato il 50% nelle regioni dell'Africa Meridionale.² (Figura 4)

Il rischio di sviluppare la malattia è infatti 19 volte maggiore nei soggetti HIV-positivi rispetto al resto della popolazione.²

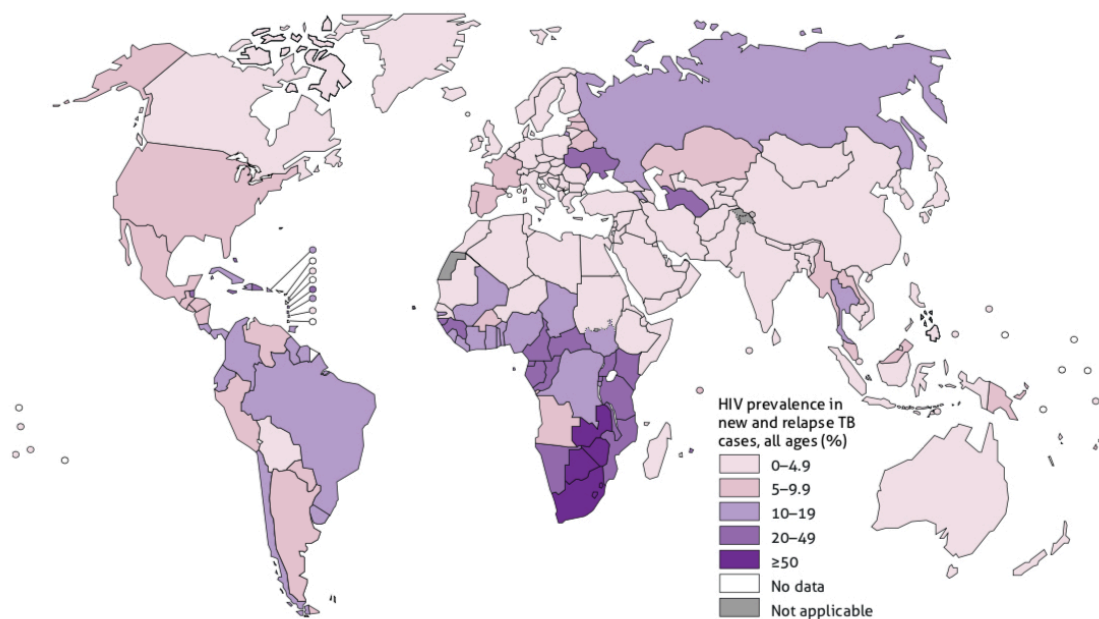


Figura 4 – Prevalenza stimata dell'HIV nei nuovi casi e nelle ricadute di TB nel 2018.²

Nel 2018 sono stati inoltre riportati 143'000 nuovi casi di tubercolosi causata da *M. bovis*, trasmesso attraverso l'ingestione di prodotti derivati da animali infetti (latte non pastorizzato), distribuiti soltanto in 16 Paesi.²

La tubercolosi colpisce entrambi i sessi in tutte le fasce d'età, anche se l'incidenza maggiore si registra nei maschi tra i 15 e i 54 anni di età. Questo gruppo era responsabile del 57% dei nuovi casi di tubercolosi nel 2018, mentre le femmine solo del 32% e i bambini (<15 anni) solo dell'11%.²

1.3.2 Mortalità

I dati ricavati analizzando studi svolti prima dell'avvento della terapia farmacologica antitubercolare mostrano che, in assenza di trattamento, la mortalità per tubercolosi è del 70% a dieci anni in pazienti HIV-negativi e con analisi microscopica dell'espettorato positiva, mentre è del 20% in pazienti HIV-negativi aventi analisi microscopica dell'espettorato negativa e coltura dell'espettorato positiva (forme paucibacillari).¹⁴

Nel 2018 la tubercolosi ha causato 1,2 milioni di morti tra i pazienti HIV-negativi e altre 251'000 morti tra i pazienti HIV-positivi, con un'incidenza rispettivamente di 16 casi ogni 100'000 persone e di 20 casi ogni 100'000 persone includendo anche le morti tra i soggetti HIV-positivi. L'80% circa delle morti per tubercolosi in soggetti HIV-negativi si è verificata in Africa e nel Sud Est Asiatico, dimostrando una prevalenza nettamente più bassa nei paesi più industrializzati.²

Dal 2000 la mortalità assoluta sta progressivamente diminuendo sia tra i soggetti HIV-negativi sia tra quelli positivi: si è registrata tra i primi una diminuzione della mortalità del 27% (da 1,7 milioni di morti nel 2000 a 1,2 milioni nel 2018) e tra gli ultimi una diminuzione ben più marcata, pari al 60% (da 624'000 morti nel 2000 a 251'000 nel 2018).²

1.3.3 *M. tuberculosis* e fattori di rischio

Nonostante i dati epidemiologici precedenti al XX secolo siano imprecisi, è accertato che l'incidenza della tubercolosi sia aumentata durante il XVII e il XVIII secolo nei paesi più avanzati nell'ambito dell'industrializzazione e dell'urbanizzazione: la prevalenza della malattia era infatti maggiore nelle aree urbane che in quelle rurali, a causa dell'aumentata densità della popolazione e delle condizioni abitative di sovraffollamento.¹⁵

Durante il XX secolo la crescita economica, le riforme sociali e il miglioramento delle condizioni di vita portarono a una diminuzione dell'incidenza della malattia nella

maggior parte dei paesi industrializzati. In questo periodo si registrarono infatti solo tre picchi di incidenza: due rispettivamente durante la Prima e la Seconda Guerra Mondiale e il terzo in concomitanza della pandemia da HIV. Da ciò emerge come ci sia una correlazione diretta tra lo stato socioeconomico di un individuo e il rischio di sviluppare la malattia. I soggetti provenienti dagli ambienti più poveri hanno infatti più probabilità di vivere e lavorare in ambienti affollati e con scarsa ventilazione, di entrare in contatto con soggetti affetti da malattia attiva, sono più spesso malnutriti e hanno meno accesso ai servizi sanitari. Inoltre, altri fattori di rischio sono più diffusi tra le fasce più basse della popolazione, quali il fumo di sigaretta, l'abuso alcolico, l'infezione da HIV e il diabete mellito (soprattutto di tipo 2, a causa del basso costo di cibi ipercalorici e a basso apporto nutrizionale).¹⁵

Secondo il *Tuberculosis Global Report 2019* (WHO, *World Health Organization*) sono cinque i fattori di rischio principali correlati con lo sviluppo della malattia tubercolare: la denutrizione (a cui sono attribuiti 2,3 milioni di nuovi casi di TB nel 2018), il fumo di sigaretta (0,9 milioni di nuovi casi/2018), l'abuso di alcol (0,8 milioni di nuovi casi/2018), l'HIV (0,8 milioni di nuovi casi/2018) e il diabete mellito (0,4 milioni di nuovi casi/2018).²

Un altro aspetto importante nell'ambito della tubercolosi è lo stigma che la malattia porta con sé: per questa ragione, molti individui affetti sono riluttanti nel cercare cure appropriate fino a fasi molto avanzate della malattia stessa, cosa che porta inevitabilmente a un incremento della morbilità e della mortalità e ad un maggior rischio di trasmissione, quindi ad un minor controllo della malattia.¹⁶

1.3.3.1 Tubercolosi e Diabete Mellito

La tubercolosi e il diabete mellito si influenzano reciprocamente: diversi studi da tutto il mondo suggeriscono infatti che il 5-30% dei pazienti con tubercolosi è contemporaneamente affetto da diabete mellito. Il diabete è infatti un fattore di rischio per le infezioni delle basse vie respiratorie, inclusa la tubercolosi.¹⁷ Uno studio di Stevenson et al. ha dimostrato che i soggetti diabetici hanno un rischio aumentato di 1,5-7,8 volte di sviluppare tubercolosi attiva rispetto alla popolazione non diabetica, soprattutto i soggetti più giovani.¹⁸

Nonostante il diabete di tipo 2 abbia una prevalenza maggiore a livello mondiale, il rischio di sviluppare la malattia è da tre a cinque volte maggiore nel diabete di tipo 1, a causa del basso peso corporeo, della giovane età degli individui affetti e del più scarso compenso glicemico.¹⁷

I meccanismi fisiopatologici che portano ad un aumentata incidenza della tubercolosi nei pazienti diabetici sono diversi e in gran parte correlati alla diminuita attività dell'immunità cellulo-mediata: nei soggetti diabetici si assiste infatti ad una riduzione della conta dei linfociti T e della risposta Th1 (TNF α , IL-1 e IL-6) che normalmente inibisce *M. tuberculosis*. Risultano ridotte anche la funzione e la conta dei neutrofili, la produzione di ROS, la fagocitosi e la chemiotassi dei macrofagi e la chemiotassi dei monociti.¹⁷

Dall'altro lato, è stato evidenziato in numerosi studi che pazienti con tubercolosi attiva presentavano una ridotta tolleranza glucidica o diabete mellito: tuttavia non ci sono prove sufficienti per dimostrare una diretta correlazione e si pensa quindi che lo scarso controllo glicemico, che spesso scompare al termine della terapia antitubercolare, possa essere dovuto alla risposta dell'organismo nei confronti dell'infezione e ad alcuni farmaci antitubercolari responsabili dell'iperglicemia, i.e. rifampicina.¹⁸

I riscontri clinici dello studio di Stevenson et al. hanno dimostrato che nei soggetti affetti sia da tubercolosi sia da diabete mellito si riscontra un aumento della severità della tubercolosi (aumento del numero delle cavitazioni, localizzate soprattutto in sede atipica a livello delle basi polmonari), della mortalità, del fallimento terapeutico e del rischio di recidiva.¹⁸

1.3.3.2 Tubercolosi e HIV

La prima causa di morte nei soggetti HIV-positivi è la coinfezione con *M. tuberculosis*. Essa garantisce vantaggi reciproci a entrambi i patogeni: infatti, l'infezione da HIV-1 è il principale fattore di rischio per lo sviluppo della tubercolosi attiva e la coinfezione con *M. tuberculosis* può incrementare la replicazione virale, contribuendo così alla progressione della malattia verso l'AIDS. Ciò si verifica grazie all'interazione di entrambi questi microrganismi con gli stessi tipi cellulari: i linfociti T CD4⁺ e i macrofagi.¹⁹

L'HIV-1 replica all'interno dei linfociti T CD4⁺ e, *in vivo*, anche i macrofagi possono essere sede della sua replicazione.¹⁹

M. tuberculosis è un patogeno intracellulare facoltativo e in condizioni normali il controllo dell'infezione è mediato dalla fagocitosi del batterio da parte dei macrofagi e dalla clearance del fagosoma attraverso la via dell'autofagia.¹⁹

L'IFN γ prodotto dai linfociti Th1 e la vitamina D promuovono l'assemblaggio dell'autofagosoma e quindi la degradazione del batterio; questo meccanismo viene meno

in corso di infezione da HIV-1 a causa della progressiva deplezione dei linfociti T CD4⁺, fin dalle fasi più precoci di infezione.¹⁹

L'infezione dei macrofagi da parte di HIV-1 fa sì che venga inibito il riciclo degli endosomi, necessario per la formazione di nuovi fagosomi, e riduce così la capacità fagocitica dei macrofagi stessi. Inoltre, impedisce la maturazione degli autofagolisosomi portando quindi a un aumento della replicazione di *M. tuberculosis* e di HIV-1.¹⁹

In conclusione, l'infezione da HIV aumenta il rischio di malattia attiva dopo l'infezione primaria, favorisce la riattivazione della tubercolosi latente e le localizzazioni extrapolmonari.⁶

Il quadro clinico della tubercolosi varia a seconda dello stadio della malattia da HIV. Nello stadio iniziale è sovrapponibile a quello della tubercolosi postprimaria dell'adulto, il TST e i test IGRAs risultano positivi, così come la ricerca del BK nell'espettorato e nel BAL (lavaggio broncoalveolare). Nello stadio avanzato le manifestazioni cliniche sono aspecifiche, il quadro radiologico polmonare è atipico o simile a quello della tubercolosi primaria ed è più comune la localizzazione extrapolmonare della malattia; il TST e l'isolamento del BK dall'espettorato o dal BAL sono frequentemente negativi, mentre i test IGRAs possono risultare positivi, poiché meno influenzati dall'immunocompromissione dei soggetti HIV-positivi.⁶

Infine, bisogna ricordare che anche *M. tuberculosis* ha effetti favorevoli nei confronti di HIV-1: è stato evidenziato un aumento della carica virale nel sangue periferico dei pazienti coinfectati dal micobatterio e da HIV-1. Infatti, la replicazione di HIV-1 avviene principalmente nei linfociti T attivati: essi vengono reclutati nei siti di flogosi granulomatosa in corso di infezione da *M. tuberculosis*. Si crea quindi un ambiente ricco di linfociti T che facilita la rapida diffusione del virus attraverso la trasmissione cellula-cellula e, quindi, un aumento della replicazione virale.¹⁹

1.3.4 Farmacoresistenza

La farmacoresistenza di *M. tuberculosis* è un problema che riguarda attualmente molti paesi a livello mondiale.²

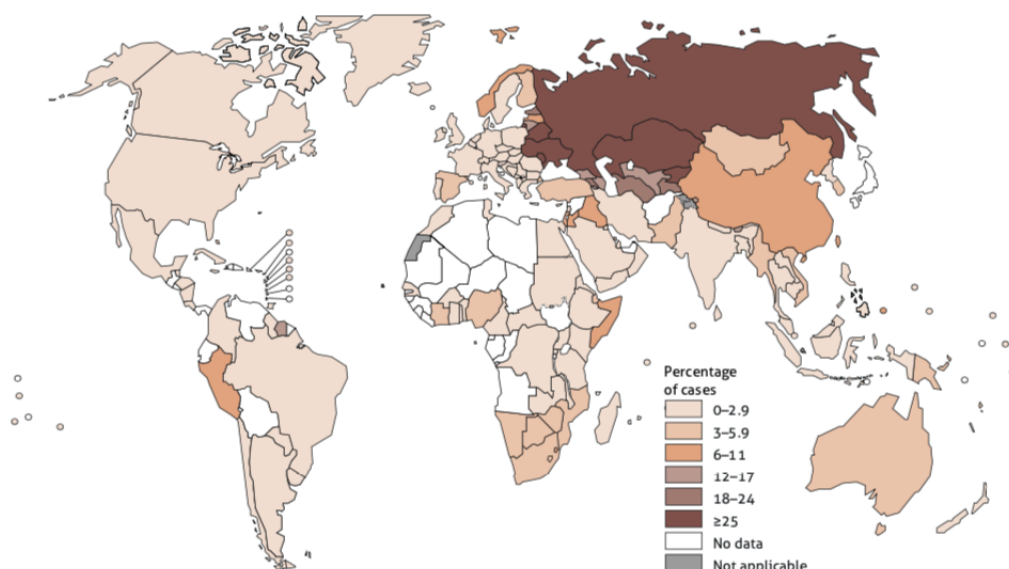
L'HIV-1 è un fattore di rischio indipendente per l'emergenza di ceppi di *Mtb* multi-farmaco resistenti (MDR).¹⁹

Si distinguono quattro diverse categorie in base ai farmaci verso cui la farmacoresistenza è rivolta:²⁰

1. Rifampici-resistant TB (RR-TB): *Mtb* è resistente solo alla rifampicina.

2. Isoniazid-resistant TB (Hr-TB): *Mtb* è resistente all'isoniazide ma sensibile alla rifampicina: nel 2018 si è registrata un'incidenza del 7,2% nei nuovi casi di TB e dell'11,6% nei casi già trattati.²⁻²⁰
3. Multidrug-resistant TB (MDR-TB): *Mtb* è resistente alla rifampicina e all'isoniazide.
4. Extensively drug-resistant TB (XDR-TB): la MDR si associa a resistenza verso almeno uno dei fluorochinolonici e uno degli aminoglicosidi iniettabili utilizzati nel trattamento della MDR-TB (amikacina, capreomicina o kanamicina).

Nel 2018, si è verificato circa mezzo milione di casi di RR-TB, di cui il 78% avevano MDR-TB: complessivamente il 3,4% di nuovi casi e il 18% dei casi già precedentemente trattati erano casi di MDR/RR-TB. La proporzione di casi più elevata è stata registrata nei Paesi dell'ex Unione Sovietica, per un ammontare del 25% tra i nuovi casi e di oltre il 50% per i casi già trattati. La distribuzione geografica mostra che il 27% del totale dei



casi di MDR/RR-TB si è verificata in India, il 14% in Cina e il 9% in Russia.² (Figura 6)

Figura 6- Percentuale dei nuovi casi di MDR/RR-TB nel 2018.²

Nel 2018, le morti per MDR/RR-TB sono state, a livello mondiale, 214'000.²

1.3.5 La casistica in Italia

Secondo i dati raccolti nel report “*Tuberculosis surveillance and monitoring in Europe 2019*” (WHO) nel 2017 si sono verificati in Italia 3944 nuovi casi di tubercolosi (nel 97,1% si trattava di casi non precedentemente trattati, definiti “nuovi”). Tra questi, il 66,2% dei casi è stato diagnosticato in persone nate all'estero, mentre il restante 33,8% in persone nate in Italia.²⁰

È stato stimato che in 470 casi (10,7%) fosse presente una coinfezione TB/HIV. Inoltre, 168 casi (4,3%) sono stati diagnosticati nei bambini (<15 anni), 1400 nel sesso femminile (35,5%) e 2376 in quello maschile (60,2%). La fascia di età in cui è stato registrato il maggior numero di casi (1437) è quella compresa tra i 25 e i 44 anni.²⁰ Per quanto riguarda la localizzazione della malattia, il 68,8% dei pazienti aveva una localizzazione solo polmonare, il 29,5% solo extrapolmonare e l'1,5% presentava entrambe le localizzazioni.²⁰ Considerando solamente i nuovi casi, solo il 2,8% era causato da *M. tuberculosis* resistente alla rifampicina o MDR, mentre nei casi già precedentemente trattati questa percentuale raggiungeva il 13%.²⁰ A partire dal 2013 il nostro paese ha registrato un calo dello 0,6% nell'incidenza della tubercolosi, passando da 3977 nuovi casi nel 2013 a 3944 nuovi casi nel 2017.²⁰

1.4 Modalità di infezione

La tubercolosi viene trasmessa per contagio interumano, più spesso per via aerogena, ma talvolta anche per contatto con materiali infetti, quali le urine, il pus proveniente da focolai ossei e il latte non pastorizzato proveniente da bovini infettati da *M. bovis*; quest'ultimo caso è responsabile della tubercolosi intestinale, anche se i micobatteri possono poi raggiungere i polmoni o altri organi per via linfatica o linfoematogena. Tuttavia, la sorgente d'infezione più comune resta l'espettorato di soggetti con tubercolosi polmonare (o laringea) in forma bacillifera: quando questi pazienti tossiscono emettono nell'aria delle goccioline di saliva di diametro 1-5 µm (droplet nuclei) che contengono il micobatterio.⁶

Nell'espettorato di un paziente bacillifero sono presenti 10^5 - 10^7 bacilli acido-resistenti/mL. Quando i droplet nuclei vengono inalati da un soggetto sano possono poi viaggiare attraverso le vie aeree fino alle diramazioni bronchiali più distali oppure fermarsi a livello delle strutture linfatiche orofaringee, giungendo dunque al polmone per via linfatica (via aerolinfogena) o linfoematica (via aerolinfoematogena).⁶

La trasmissione per via aerogena è comunque influenzata dal numero di batteri escreti (carica microbica), dalla durata e dalla vicinanza dell'esposizione al soggetto infetto.¹³ Sono riconosciute infine anche una trasmissione per via cutanea e per via transplacentare, le quali sono però estremamente rare e di scarso significato clinico-epidemiologico.⁶

1.5 Patogenesi

L'evoluzione naturale dell'infezione tubercolare è influenzata soprattutto dalla competenza immunitaria dell'ospite e dallo sviluppo di una risposta specifica da parte dei linfociti T anti-*M. tuberculosis*.⁶ Negli adulti immunocompetenti infatti il *lifetime risk* di sviluppare la malattia attiva dopo l'inalazione dei droplet nuclei è del 10%, mentre il 90% dei soggetti immunocompetenti elimina *M. tuberculosis* o lo mantiene in uno stato di latenza.²¹

I linfociti T attivati secernono citochine che da un lato attivano i macrofagi, principali effettori della risposta al *M. tuberculosis*, dall'altro sono responsabili dello sviluppo di danno tissutale, poiché favoriscono la formazione di granulomi e cavitazioni.²²

Quando le particelle contenenti *M. tuberculosis* penetrano nell'albero respiratorio vengono in parte espulse dall'apparato ciliare della mucosa, in parte raggiungono gli alveoli. Qui *M. tuberculosis* viene fagocitato dai macrofagi alveolari e, bloccando la maturazione del fagosoma e la formazione del fagolisosoma, inizia a replicarsi al loro interno (*infezione primaria*).⁶ Così, nelle prime tre settimane i batteri proliferano e possono causare una batteriemia e una localizzazione metastatica per via linfoematogena.²²

I macrofagi alveolari migrano a livello dei linfonodi regionali dove presentano gli antigeni tubercolari ai linfociti T, attivandoli: questi differenziano in linfociti Th1 e iniziano a produrre IFN γ , che a sua volta attiva i macrofagi permettendo così il contenimento dell'infezione tubercolare (*immunità cellulo-mediata*). L'IFN γ stimola la maturazione dei fagolisosomi nei macrofagi infetti, la produzione di ROS e ossido nitrico e l'autofagia, un processo che permette di internalizzare e distruggere *M. tuberculosis*.²² Oltre a ciò, la risposta Th1 è responsabile della formazione del granuloma e della necrosi caseosa (*reazione di ipersensibilità ritardata*): i macrofagi non attivati e contenenti bacilli tubercolari in replicazione attiva vengono distrutti dando luogo ad aree di necrosi caseosa (caseum), quelli attivati dall'IFN γ si differenziano in cellule epiteliodi che si aggregano attorno all'area centrale di necrosi per formare i granulomi; alcune cellule epiteliodi si fondono tra loro a formare le cellule giganti di Langhans.²²

I granulomi sono responsabili del danno tissutale locale, ma hanno in realtà una funzione protettiva: all'interno del caseum il pH è acido e la tensione di ossigeno è bassa, rendendo così difficile la replicazione dei micobatteri.⁶

I micobatteri possono rimanere confinati dentro ai macrofagi per anni: in genere il soggetto guarisce e si verifica la calcificazione dei granulomi; alla radiografia (RX) del torace questo si evidenzia come una calcificazione periferica polmonare e del linfonodo ilare che la drena, collegati tra loro da strie linfangitiche (*complesso primario di Ghon*, tipico dell'*infezione tubercolare*). Se alcuni micobatteri persistono all'interno del focolaio parenchimale si instaura la condizione di *tubercolosi latente*, che è asintomatica. In caso di immunocompromissione, anche dopo anni, questi micobatteri possono riattivarsi e dare origine alla *tubercolosi postprimaria da riattivazione endogena*. La tubercolosi postprimaria può essere inoltre dovuta a una *reinfezione esogena*: questo avviene soprattutto in aree ad alta prevalenza di malattia tubercolare.⁶⁻²³

Mentre il 90% dei soggetti guarisce o sviluppa la tubercolosi latente, nel 10% dei soggetti il complesso primario evolve determinando l'insorgenza della *malattia tubercolare*: il caseum va incontro a un processo di colliquazione, con conseguente aumento dell'ossigenazione a livello del focolaio, che rende possibile la replicazione del micobatterio. Inoltre, il materiale colliquoato drena all'interno dei bronchi e dei vasi ematici e linfatici, portando rispettivamente all'eliminazione del micobatterio all'esterno, con possibilità di infettare altri soggetti, e alla disseminazione a distanza del bacillo. In questa fase si assiste anche alla formazione delle cavitazioni.⁶

È quindi evidente come la risposta immunitaria dell'ospite sia fondamentale nel determinare l'evoluzione dell'infezione. Tuttavia, essa è anche responsabile della presentazione tipica della tubercolosi: infatti nei pazienti HIV-positivi con linfocitopenia severa non si sviluppa una risposta specifica contro *M. tuberculosis* e il quadro che ne deriva è dunque atipico, caratterizzato da disseminazione sistemica e assenza di caverne polmonari.²⁴

1.6 Sintomatologia clinica

L'*infezione* tubercolare, ossia il contatto dell'ospite con *M. tuberculosis*, non implica necessariamente lo sviluppo di *malattia*. Come già detto, infatti, il 5% degli individui infettati sviluppa la malattia tubercolare nel primo anno dalla conversione del TST, il 5% durante tutta la vita e il 90% guarisce o contiene l'infezione in uno stato di latenza. L'infezione evolve in malattia più frequentemente se contratta durante l'infanzia, tra i 15 e i 25 anni e dopo i 65 anni.⁶

La storia clinica della malattia è delineata da tre eventi principali: l'*infezione* tubercolare, che è asintomatica, la *tubercolosi primaria* e la *tubercolosi postprimaria*.⁶

1.6.1 Infezione primaria

Il primo contatto con il *M. tuberculosis* si verifica in media nella prima adolescenza o in età adulta. Tuttavia, nelle aree ad alta endemia il primo contatto con il BK avviene più frequentemente in età pediatrica.⁶

L'infezione primaria dà luogo alla formazione del *complesso primario* o *di Ghon*, che è formato dal focolaio parenchimale e dall'adenite satellite, collegati tra loro dalla linfangite intermedia. Il complesso primario si trova più spesso a livello dei lobi superiore e medio, in sede subpleurica e nel polmone destro, poiché queste sono le zone meglio ventilate. Tuttavia, può localizzarsi anche a livello del cavo orale, dell'intestino e della cute.²²

Il focolaio parenchimale ha la forma di un chicco di riso o di un pisello; esso è costituito da una porzione centrale di necrosi caseosa circondata da una barriera di collagene, fibroblasti, monociti-macrofagi e linfociti. Da qui i macrofagi che hanno fagocitato il *M. tuberculosis* migrano attraverso i vasi linfatici ai linfonodi regionali, causando così la linfangite intermedia dei collettori peribronchiali e perivasali e l'adenite satellite dei linfonodi interbronchiali e delle successive stazioni parailari e tracheobronchiali.⁶

Le lesioni linfonodali sono istologicamente simili a quelle del focolaio parenchimale, così come il loro esito: entrambe infatti vanno incontro a un processo di fibrosi con deposizione di sali di calcio, portando così alla formazione di un reliquato calcifico visibile alla radiografia e noto come "complesso di Ranke".⁶⁻²² (Figura 7)

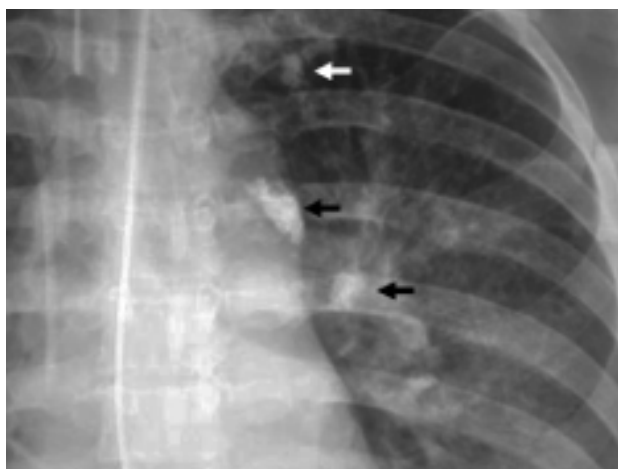


Figura 7- Complesso di Ranke formato da un granuloma calcificato (freccia bianca) e da due linfonodi parailare e paraortico calcificati (freccie nere).²⁵

In questa fase la sintomatologia clinica è del tutto assente, perciò gli unici segni di avvenuta infezione sono quelli radiologici (complesso di Ranke) e la positività del TST e dei test IGRA.⁶

1.6.2 Tubercolosi primaria

Se l'infezione primaria non viene controllata dal sistema immunitario, si sviluppa la *tubercolosi primaria*, la quale è sintomatica e può presentarsi con quadri clinici differenti.⁶

Tubercolosi primaria morbigena semplice: questa forma è da ricondursi a fenomeni immunomediati, sia polmonari sia extrapolmonari. A livello del parenchima si sviluppa un quadro di "epitubercolosi", ossia atelettasia del lobo o segmento polmonare causata dalla compressione dei bronchi da parte di linfonodi mediastinici e/o ilari.⁶⁻²⁶ Il quadro di epitubercolosi è più comune nei bambini, poiché i loro bronchi sono meno rigidi e più elastici. Radiologicamente, questo quadro è caratterizzato da linfadenopatia ilare, atelettasia e consolidamento.²⁶

Una complicanza dell'epitubercolosi sono le bronchiectasie secondarie.²⁷

La sintomatologia ha un esordio brusco, con febbre subcontinua, sudorazione profusa e tosse modesta con espettorazione scarsa o assente. Si verifica inoltre un aumento degli indici di flogosi e la positivizzazione del TST e del test IGRA. Il decorso clinico è generalmente favorevole e il quadro si risolve entro dieci giorni circa, mentre la risoluzione radiologica si ha dopo 4-5 settimane.⁶

La pleura può essere inoltre interessata da una reazione fibrinosa o sierofibrinosa, che si manifesta con sintomatologia variabile.⁶

Oltre alle manifestazioni polmonari e pleuriche, questa fase si caratterizza per la presenza di *cheratocongintivite flitenuolare*, causa di fotofobia e lacrimazione, e di *eritema nodoso*, caratterizzato da noduli sottocutanei dolenti, di colorito che evolve dal rossastro al violaceo, che compaiono a livello della faccia estensoria degli arti inferiori. Le manifestazioni cutanee sono precedute per alcuni giorni da febbre, artralgie e disturbi digestivi e regrediscono in 10-15 giorni.⁶

Tubercolosi primaria a evoluzione tisiogena: è conseguenza dell'ulcerazione del focolaio polmonare primario ed è espressione del mancato controllo dell'infezione da parte del sistema immunitario. Il caseum va incontro a colliquazione e il focolaio si ulcera. L'evacuazione nei bronchi o nei vasi del caseum colliquato causa la formazione della

caverna primaria che può ingrandirsi, andando a distruggere aree molto vaste di parenchima polmonare, e divenire responsabile dei quadri clinici da diffusione broncogena (*polmonite caseosa*) o ematogena (*miliare acuta del periodo primario*). Nei casi più favorevoli la caverna regredisce invece per cicatrizzazione.⁶

Adenopatia tisiogena ilomediastinica: questa forma può presentarsi in concomitanza all'infezione primaria o nel periodo immediatamente successivo e può svilupparsi anche se il complesso primario si è già cicatrizzato: in questo caso è indice di una ripresa dell'evoluzione dei focolai linfoghiandolari residui.

Clinicamente si presenta con febbre, tosse con scarsa espettorazione e sudorazione profusa ed è quindi indistinguibile dalla tubercolosi primaria morbigena semplice.

Questo quadro può costituire il punto di partenza di una generalizzazione dell'infezione.⁶

1.6.3 Tubercolosi postprimaria

La tubercolosi postprimaria può essere conseguenza di una riattivazione endogena di una pregressa infezione oppure di una reinfezione esogena.²⁸ Perché si verifichi la riattivazione endogena i bacilli devono rimanere in uno stato di latenza all'interno dei granulomi o nel tessuto immediatamente circostante, per poi riattivarsi quando l'immunità non riesce più a bloccare la loro replicazione.²³

Tra i pazienti immunodepressi (HIV, diabete, silicosi, terapia cronica con corticosteroidi) il meccanismo principale è quello della riattivazione endogena. Inoltre, è stato dimostrato da numerosi studi come la riattivazione endogena sia il più comune meccanismo patogenetico nelle aree a bassa endemia, mentre la reinfezione esogena nelle aree ad alta endemia, che coincidono più spesso con i paesi in via di sviluppo.²⁸

Il quadro clinico più frequentemente osservato è caratterizzato dalla presenza dell'*infiltrato precoce di Assmann*, tipicamente localizzato nei segmenti apicale e posteriore dei lobi polmonari superiori. Questo appare all'inizio come una formazione nodulare, ma tende ad andare incontro a colliquazione e quindi all'escavazione: si formano così le caverne. Può coesistere una reazione essudativa a carico di tutto il lobo polmonare: in tal caso si parla di *lobite*.⁶

I sintomi all'esordio sono variabili e in genere preceduti da settimane o mesi di tosse cronica.²⁷ La maggior parte dei pazienti presenta infatti una sintomatologia insidiosa, caratterizzata da febbre e sudorazione notturna, anoressia, malessere generale e astenia. La tosse è presente in più del 90% dei casi: all'inizio si tratta di tosse secca e mattutina, poi diventa produttiva e presente per tutta la giornata.⁶ L'espettorato può essere mucoso,

muco-purulento o screziato di sangue, fino a un quadro di emottisi franca.²⁸ In altri pazienti invece, i sintomi compaiono solo dopo la formazione della caverna e il primo segno consiste nell'emottisi (20-30% dei casi).⁶ L'emottisi può essere causata dall'invasione, da parte di tessuto di granulazione tubercolare, della parete di un'arteria polmonare periferica localizzata all'interno di una caverna tubercolare (aneurisma di Rasmussen) o dall'erosione di arterie bronchiali o polmonari.²⁷⁻²⁸

Nelle forme di lobite ai sintomi costituzionali si associa un dolore toracico sordo e a localizzazione profonda, espressione dell'interessamento della pleura scissurale.⁶

Le forme non trattate evolvono nella *tubercolosi cavitaria cronica*, mentre è abitualmente favorevole la prognosi delle forme in cui è iniziato prontamente il trattamento chemioantibiotico.⁶

Tubercolosi miliare: è causata dalla rottura di un focolaio colliquato all'interno di un vaso linfatico o sanguigno, con conseguente embolizzazione dei bacilli tubercolari nei letti capillari di multipli organi.²⁹ Il focolaio più frequentemente si trova a livello di un linfonodo, ma può avere sede ovunque.⁶

Poiché l'ospite è già sensibilizzato al micobatterio tende a limitare le lesioni. Esse vengono dette miliari, data la loro somiglianza con i semi di miglio: l'elemento miliarico ha un diametro di circa 1 mm ed è costituito da 3-4 tubercoli, a loro volta formati da un nucleo di necrosi caseosa circondato da un vallo linfocitario, contenente anche plasmacellule e fibroblasti. Tra il vallo e la zona centrale si trovano le cellule giganti di Langhans e le cellule epitelioidi.⁶

L'organo più coinvolto nella tubercolosi miliare è il polmone, seguito dal fegato.²⁹ La disseminazione dei micobatteri permette di distinguere una forma *miliare diffusa*, quando sono coinvolti l'intero parenchima polmonare e alcuni organi extratoracici, e una forma *miliare circoscritta*, quando la disseminazione è limitata ad alcune zone del parenchima polmonare o di altri organi. Clinicamente le forme miliari polmonari possono avere un andamento acuto (*miliari acute*) o un andamento subdolo, discontinuo e lento (*miliari subacute o croniche*).⁶

La tubercolosi miliare acuta diffusa è la più grave: oltre all'interessamento polmonare si registra spesso il coinvolgimento meningeo, con possibile meningite tubercolare.⁶

I tubercoli corioidei retinici visibili all'oftalmoscopia sono inoltre patognomonici per la tubercolosi miliare.²⁷

La tubercolosi miliare esordisce con sintomi generali quali cefalea, malessere, astenia, febbricola e sudorazione. La febbre diventa poi elevata, continua o remittente e

compaiono cianosi, obnubilamento del sensorio, dispnea e tachicardia. La tosse è modesta e l'espettorato scarso o assente.⁶ All'esame radiologico del torace si evidenzia la disseminazione bilaterale di piccoli elementi miliarici.⁶ (Figura 8)

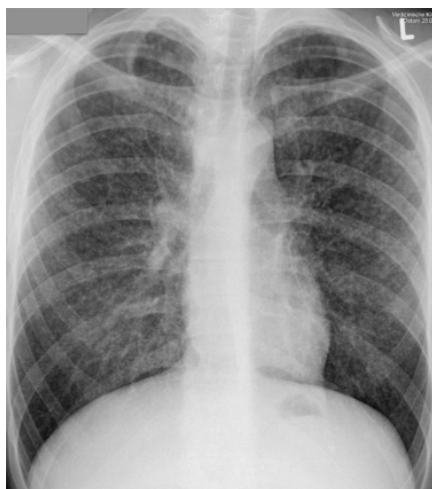


Figura 8- Radiografia toracica con quadro tipico di tubercolosi miliare.²⁷

In assenza del reperto radiologico tipico la diagnosi è complicata, vista la frequente negatività dell'esame microscopico per la ricerca di BK nell'espettorato. Il test IGRA e il TST sono di solito positivi.⁶

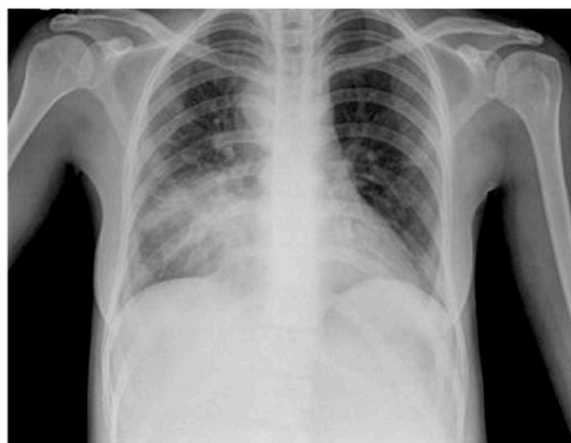
Agli esami di laboratorio si riscontrano anemia, trombocitopenia, leucopenia o leucocitosi; possono essere presenti inoltre ipoalbuminemia e alterazioni dei test di funzionalità epatica, aumento della VES (velocità di eritrosedimentazione) e iponatriemia (dovuta alla SIADH, Sindrome da inadeguata secrezione di ADH).²⁷

La prognosi è pessima in assenza di trattamento (il paziente muore per meningite tubercolare o insufficienza respiratoria), mentre è molto buona se si ricorre alla polichemioterapia.⁶

Le forme miliari diffuse ad andamento subacuto o cronico non rappresentano l'evoluzione della forma acuta. La sintomatologia è aspecifica (bronchite o pleurite) e la distribuzione degli elementi miliarici alla radiografia appare irregolare: questo rende ragione della difficoltà nella diagnosi.⁶

Polmonite caseosa: è caratterizzata da lesioni caseose a carico di un intero lobo polmonare. È una forma ormai rara, ad andamento pneumonitico ed evoluzione fatale. L'esordio è brusco, con febbre elevata e stato tossiemico.⁶

Broncopolmonite tubercolare a focolai disseminati: è una broncoalveolite caseosa a focolai multipli, che confluiscono tra loro ed evolvono verso l'escavazione. L'esordio è



iperacuto, con febbre molto elevata, tosse e frequente emottisi, dispnea e compromissione dello stato generale. Radiologicamente sono presenti addensamenti nodulari a distribuzione irregolare, con contorni sfumati e immagini iperchiare nel loro contesto.⁶ (Figura 9)

Figura 9- Radiografia del torace che evidenzia una broncopolmonite parenchimale con addensamento parenchimale in campo medio-basale destro.⁶

Tubercolosi cavitaria cronica (tisi): l'elemento patognomico è costituito dalle caverne. Gli aspetti clinici e radiologici sono estremamente vari e l'espettorato è quasi sempre positivo per la ricerca del BK. Il decorso non si dimostra necessariamente di tipo consuntivo, come si osservava invece in passato.⁶ (figura 10)

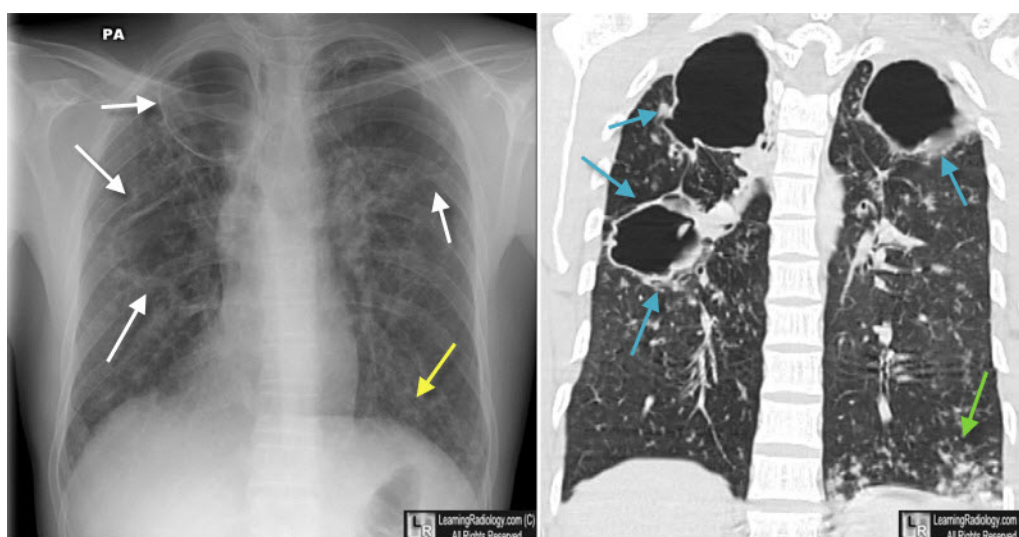


Figura 10- a sinistra: radiografia del torace che evidenzia caverne polmonari ai campi medio-apicali bilateralmente (freccie bianche) e coinvolgimento dello spazio aereo a livello della base destra (freccia gialla); a destra: TC coronale che evidenzia le caverne polmonari ai campi medio-apicali bilateralmente (freccie blu) e segni di consolidamento alla base sinistra (freccia verde). Sono visibili bilateramente addensamenti nodulari diffusi su tutti i campi.³⁰

1.6.3.1 Complicanze della tubercolosi postprimaria

Le complicanze della tubercolosi postprimaria possono essere numerose. Oltre al sopracitato aneurisma di Rasmussen, si annoverano:²⁸

1. Tubercolosi endobronchiale: consiste nell'infezione della parete bronchiale, che può avere origine per continuità da una cavità tubercolare situata nel parenchima polmonare, da focolai caseosi a livello linfonodale o dalla diffusione per via linfatica o ematogena dell'infezione. L'infezione bronchiale può contribuire alla diffusione del micobatterio ad altri segmenti o lobi polmonari, portando alla comparsa di broncopolmonite. La presentazione clinica può essere variabile, infatti entra in diagnosi differenziale con altre patologie polmonari, ma la sintomatologia classica si presenta con tosse abbaiante, sibili ed espettorazione di materiale caseoso. La dilatazione delle pareti bronchiali è responsabile di un'altra complicanza, le bronchiectasie.
2. Pneumotorace: è dovuto alla rottura di una caverna tubercolare localizzata in continuità con la pleura. L'incidenza è inferiore all'1%.
3. Sindrome da distress respiratorio acuto
4. Fistola tubercolare broncopleurica: può formarsi tra il bronco in continuità con la cavità tubercolare e la pleura. Si verifica in meno dell'1% dei casi. I pazienti sono in genere sintomatici e la produzione di espettorato può aumentare. Il trattamento richiede il drenaggio intercostale.
5. Aspergilloma: si sviluppa quando una cavitazione polmonare viene colonizzata dalle spore di *Aspergillus fumigatus* formando così un micetoma. I pazienti sono spesso asintomatici, ma possono presentare emottisi, caso in cui è necessaria la resezione chirurgica. Il trattamento antifungino non è efficace.
6. Tuberculoma: solitario o multiplo, può avere un diametro tra 0.5 e 4 cm, margine sfumato o netto, forma rotondeggiante o ovale. Viene riscontrato alla radiografia nel 5% dei pazienti con tubercolosi, con evidenza di caseosi centrale o calcificazioni nel 20-30% dei casi.
7. Gangrena polmonare tubercolare: è una complicanza rara ma fatale. Il coinvolgimento dei vasi adiacenti alla caverna causa lo sviluppo di vasculite con conseguente trombosi, a sua volta causa di gangrena polmonare.

1.6.3 Tuberculosis extrapulmonare

Fino al 40% dei casi di tubercolosi diagnosticati negli Stati Uniti e in Europa sono extrapulmonari.²⁷ La tubercolosi extrapulmonare può colpire qualsiasi organo, in ordine di frequenza: linfonodi, pleure, apparato genitourinario, ossa e articolazioni, meningi, peritoneo e pericardio.⁶ Vista l'inaccessibilità dei siti coinvolti, la conferma batteriologica dell'avvenuta infezione risulta più difficoltosa e procedure invasive sono più frequentemente necessarie per stabilire una diagnosi.²⁵

Un fattore di rischio per lo sviluppo di tubercolosi extrapulmonare è la coinfezione con HIV: uno studio retrospettivo sulla tubercolosi in pazienti HIV-positivi ha evidenziato che un terzo di questi presentava solo tubercolosi extrapulmonare, un terzo sia polmonare sia extrapulmonare e un terzo solo polmonare.²⁵

Tubercolosi linfoghiandolare superficiale (scrofolo). La linfadenite tubercolare è localizzata soprattutto alle stazioni laterocervicali e sottomandibolari ed è obiettivabile come una linfadenopatia non dolente sul bordo superiore del muscolo sternocleidomastoideo. Possono essere coinvolti anche i linfonodi inguinali, ascellari o ilari.²⁷

In una prima fase i linfonodi vanno incontro a un processo di caseificazione e rammollimento, poi possono colliquarsi, fondersi in pacchetti, fissarsi alla cute e fistolizzarsi. I polmoni sono contemporaneamente coinvolti nel 40% dei casi.⁶

L'adenopatia intratoracica può comprimere i bronchi, causando atelettasie e bronchiectasie.²⁵

La diagnosi è istologica o colturale. La risposta alla polichemioterapia è più lenta rispetto alle forme esclusivamente polmonari; i corticosteroidi sono stati utilizzati per ridurre le dimensioni dei linfonodi intratoracici e quindi la compressione bronchiale, soprattutto nei bambini. L'incisione chirurgica e il drenaggio dei linfonodi coinvolti possono essere necessari per prevenire la formazione di fistole.²⁵

Tubercolosi pleurica. La tubercolosi è la causa più comune di pleurite e la tubercolosi pleurica costituisce il 20% dei casi di tubercolosi extrapulmonare.²³ *M. tuberculosis* raggiunge la pleura da focolai polmonari, che, tuttavia, non sono sempre dimostrabili.⁶

La pleurite può essere secca o fibrinosa ed essere asintomatica o manifestarsi con febbre e dolore, oppure essudativa o sierofibrinosa ed esordire in modo più brusco o subdolo. I

sintomi principali della forma essudativa sono febbre, sudorazione profusa, astenia, tosse e dolore puntorio, mentre i segni clinici sono quelli tipici del versamento pleurico.⁶

La pleurocentesi dà luogo a un liquido citrino con caratteristiche di essudato, in cui il *M. tuberculosis* si rileva solo nel 20-30% dei casi (microscopia, PCR, esame colturale). Un basso dosaggio di adenosina deaminasi nel liquido pleurico permette di escludere l'eziologia tubercolare. Talvolta per fare diagnosi è necessaria la biopsia pleurica, che mostra i tipici granulomi caseosi e permette l'isolamento del micobatterio nell'80% dei casi.⁶

Pericardite tubercolare. È più comune tra la terza e la quinta decade di età.²³ Il coinvolgimento del pericardio può avvenire per contiguità da focolai sottosierosi polmonari o per rottura di un linfonodo sottocarenale adiacente.⁶

Si distinguono tre forme di pericardite tubercolare: la forma essudativa (80% dei casi), ad esordio insidioso con sintomi aspecifici, come febbre e perdita di peso, dolore retrosternale, tosse e difficoltà respiratorie; la forma essudativa-costrittiva (5%) e la forma costrittiva (15%).²³

L'obiettività mostra segni di scompenso emodinamico, quali epatomegalia, edema periferico, polso paradossale, aumento della pressione giugulare centrale, ascite; può essere inoltre presente un rumore di sfregamento pericardico.²³

L'eziologia tubercolare di una pericardite dev'essere sospettata soprattutto in pazienti HIV-positivi. La diagnosi richiede l'esecuzione di una pericardiocentesi sotto guida ecocardiografica.⁶

Tubercolosi laringea. Rappresenta la forma più contagiosa ed è dovuta alla diffusione del micobatterio da lesioni polmonari aperte. Si caratterizza per disfonia e disfagia e la diagnosi viene fatta ricorrendo alla laringoscopia.⁶

Tubercolosi osteoarticolare. Circa il 5-10% di tutte le forme tubercolari coinvolge l'apparato osteoarticolare e l'incidenza aumenta con l'età. La sede più spesso coinvolta è la colonna vertebrale, seguita dall'anca, dal ginocchio, dall'articolazione sacroiliaca, dalla spalla, dal gomito e dalla caviglia.²³

Il quadro clinico più tipico è quello della spondilite o spondilodiscite (*malattia di Pott*), caratterizzata dalla distruzione dei corpi e dei dischi intervertebrali, che può causare la comparsa del gibbo e di cifosi.⁶ Possono inoltre formarsi ascessi ossifluenti che sono

visibili alla RMN (risonanza magnetica nucleare) e alla TC (tomografia computerizzata).²⁷ (Figura 9)



Figura 11- RMN di malattia di Pott.³¹

I segmenti più coinvolti sono la parte inferiore di quello toracico e la parte superiore di quello lombare. Il primo sintomo è il dolore localizzato al dorso, successivamente possono comparire paraplegia e sintomi neurologici.²⁷ La compressione del midollo spinale si verifica fino al 30% dei casi, portando a debolezza muscolare e perdita del controllo sfinterico.²³ È frequente la disseminazione cutanea per formazione di tragitti fistolosi e localizzazione ascessuale a livello della cute del dorso.⁶

L'artrite tubercolare è di solito monoarticolare e coinvolge principalmente l'anca o le articolazioni sottoposte a un carico maggiore. Si presenta con dolore, tumefazione e perdita di funzione.²³

L'osteomielite tubercolare è più rara dell'artrite. Essa è conseguenza della diffusione del micobatterio per via ematica e quindi è multifocale e si presenta in diversi stadi di progressione contemporaneamente. Coinvolge spesso le piccole articolazioni delle mani e dei piedi.²³

Raramente, si verifica una diffusione per continuità da un osso o un'articolazione ai tessuti muscolari, tendinei e sinoviali circostanti.²³

Tubercolosi renale. Il coinvolgimento dell'apparato urinario si verifica a seguito di una disseminazione ematogena postprimaria ed è più comune negli adulti di sesso maschile. Entrambi i reni sono coinvolti nel 30% dei casi.⁶⁻²³

Negli stadi iniziali, l'infezione renale può essere asintomatica e presentarsi soltanto con piuria sterile.²³ Con il progredire del quadro c'è una tendenza all'escavazione con conseguente eliminazione del micobatterio con le urine, che può causare disseminazione dell'infezione agli ureteri, alla vescica e ai genitali.⁶ Inoltre, la calcificazione all'interno del parenchima renale, o la formazione di calcoli nelle vie escrettrici, è la presentazione caratteristica in metà dei casi; più tardi, questa può portare a un'insufficienza renale cronica in fase terminale: si parla di autonefrectomia.²³

La tubercolosi ureterale causa restringimenti multipli e formazione di calcificazioni. L'infezione vescicale si manifesta con poliuria, disuria, ematuria e piuria e l'ispessimento della parete vescicale può mimare un carcinoma a cellule di transizione.²³ Per la diagnosi si utilizzano l'esame microscopico e colturale su urine, andando a valutare il quadro con accertamenti radiologici ed ecografici.⁶

Tubercolosi surrenalica. È secondaria a disseminazione ematogena ed è causa della Malattia di Addison.⁶

Tubercolosi genitale. Nell'uomo questa localizzazione è quasi sempre secondaria a quella renale, mentre nella donna a una disseminazione ematogena.⁶

Nel sesso maschile l'epididimo è la parte più frequentemente colpita: i sintomi sono dolore ed edema, la superficie dell'epididimo è dura e bernoccoluta alla palpazione. Lo scroto è eritematoso ed aderente ai tessuti profondi, può ulcerarsi dando luogo a fistole attraverso cui defluisce il liquido caseoso. In caso di localizzazione prostatica i sintomi urinari sono più evidenti.³²

Nel sesso femminile le tube di Falloppio sono coinvolte nel 90% dei casi di tubercolosi genitale, spesso bilateralmente.²³ Il loro coinvolgimento si manifesta con dolore addominale cronico, dismenorrea e secrezioni purulente ed è causa di infertilità.³² L'infezione può diffondersi all'utero o al peritoneo, causando rispettivamente endometrite e peritonite.²³ A livello dei genitali esterni si possono formare delle ulcerazioni che si associano a sensazione urente e prurito locali.³²

Tubercolosi addominale. Può essere causata dall'ingestione di *M. bovis*, dalla disseminazione ematogena di *M. tuberculosis* a partire da un'infezione polmonare (soprattutto per gli organi solidi) o dall'ingestione di secrezioni polmonari infette.²³

Le manifestazioni cliniche variano in relazione all'organo coinvolto: l'emorragia può complicare la tubercolosi gastrica e colon-rettale, il malassorbimento quella dell'intestino

tenue. Nel 50-70% dei casi di tubercolosi addominale sono coinvolti il tratto digiunoileale e ileocecale: in questi casi i pazienti presentano dolore colico per giorni o settimane, borborigmi e vomito. La complicanza più comune è l'ostruzione intestinale subacuta, nonostante la comparsa di dolore addominale acuto su cronico possa indicare la perforazione.²³

Il coinvolgimento isolato del colon si presenta con dolore, sanguinamento e alterazioni dell'alvo. Le ulcerazioni diffuse nel colon possono mimare un quadro di colite ulcerosa.²³ Gli organi solidi intraddominali sono coinvolti nel 20% dei casi di tubercolosi addominale e il loro coinvolgimento avviene per diffusione ematogena. Sono più spesso coinvolti nei bambini e gli adulti HIV-positivi.²³

La *peritonite tubercolare* può essere secondaria all'estensione di lesioni intestinali o alla disseminazione ematogena. I sintomi sono dolori addominali vaghi, febbre ed astenia. È inoltre presente versamento ascitico.⁶

Meningite tubercolare. Può essere l'unica manifestazione della tubercolosi o verificarsi in concomitanza con il coinvolgimento di altri organi o apparati.³³ Il sistema nervoso centrale è interessato nel 5-10% dei casi di tubercolosi extrapolmonare; sono più esposti i bambini, i soggetti HIV-positivi o in terapia con farmaci immunosoppressivi e quelli provenienti da aree ad alta endemia.³²

La meningite tubercolare coinvolge più spesso le aree silviane, le cisterne basali, il tronco encefalico e il cervelletto.³² A causa della localizzazione è frequente il coinvolgimento dei nervi cranici, con paralisi più frequentemente del III, del VI e del VII.³³ La triade classica (cefalea, febbre, rigidità nucale) è solitamente associata a deficit neurologici focali, alterazioni dello stato di coscienza (confusione, coma) e modificazioni comportamentali. Nei bambini sono spesso presenti convulsioni.³²

La diagnosi richiede l'esecuzione della puntura lombare: il liquido cefalorachidiano è limpido con pleiocitosi linfocitaria (100-500 cell/μL), aumento spiccato della protidorrachia, ipoglicorrachia marcata e aumento dei lattati.³² Tuttavia, queste alterazioni non sono esclusive della meningite ad eziologia tubercolare, ma possono presentarsi in corso di altre meningiti batteriche, fungine e carcinomatose.³³ Perciò la diagnosi di certezza si fonda sui criteri microbiologici, nonostante sia la microscopia su liquor sia la liquor-coltura abbiano una bassa sensibilità.³²

Il sistema Xpert MTB/rif è una recente introduzione nel campo della diagnostica che permette di rilevare il DNA di *M. tuberculosis* all'interno del liquor e di evidenziare la presenza della resistenza alla rifampicina.³³

Tubercolosi oculare. *M. tuberculosis* può infettare l'occhio per invasione diretta, inoculazione o diffusione ematogena. La manifestazione più comune è l'uveite posteriore, anche se ogni segmento oculare può essere coinvolto. È comune la presenza di tubercoli corioidei, noduli giallo-grigi disposti in gruppi e a margini sfumati, che, se non trattati, possono evolvere in tubercolomi e causare distacco retinico e cecità. L'occhio può anche essere coinvolto da reazioni di ipersensibilità, come nel caso della congiuntivite flitturnolare.²³

Tubercolosi cutanea. Si presenta in meno dell'1% di tutti i casi di tubercolosi. Le forme più comuni sono lo scrofuloderma e il lupus vulgaris.

Lo scrofuloderma si sviluppa quando la cute sovrastante un linfonodo tubercolare viene infiltrata da *M. tuberculosis* e si localizza soprattutto al collo, alle ascelle, alla parete toracica e all'inguine.

Il lupus vulgaris è causato dalla disseminazione ematogena del micobatterio e si localizza più spesso al volto; si caratterizza per la formazione di una placca con margine rilevato e verrucoso, che può ulcerarsi al centro. L'inoculazione diretta a livello cutaneo può causare la "chancre" tubercolare, soprattutto a livello delle estremità.²³

1.7 Diagnosi

L'infezione da *M. tuberculosis* scatena una risposta immunitaria cellulo-mediata che può essere individuata mediante due test: TST e IGRA. Entrambe queste metodiche possono essere utilizzate esclusivamente per la diagnosi di tubercolosi latente, non hanno infatti alcun valore per la diagnosi di tubercolosi attiva.²⁵

Nel 1890 Koch riuscì ad isolare per primo la tubercolina, pensando erroneamente che potesse essere utilizzata per la terapia della tubercolosi. Solo nel 1908 Mendell e Mantoux capirono che poteva essere utilizzata a scopo diagnostico e brevettarono il test di intradermoreazione alla tubercolina.²⁵ La potenza della tubercolina varia nelle diverse preparazioni e oggi giorno il TST viene svolto utilizzando un preparato purificato, il PPD (purified protein derivative).⁶

Il test viene svolto inoculando a livello della faccia volare dell'avambraccio, per via intradermica 0.1 mL di preparato contenente 5 UI di PPD.²⁵ La lettura del test si svolge 48-72 ore dopo l'iniezione. Se l'individuo non è sensibilizzato, l'inoculazione di PPD non provoca alcuna reazione; in un individuo sensibilizzato determina invece una

reazione locale, caratterizzata da un infiltrato cutaneo nel sito di iniezione: il test viene considerato positivo se, al momento della lettura, il diametro dell'infiltrato cutaneo è superiore o uguale a 10 mm per 5 UI PDD. In un soggetto HIV-positivo il test è considerato positivo se il diametro dell'infiltrato cutaneo è superiore o uguale a 5 mm.²³ La reazione si positivizza dopo 30-60 giorni dal contatto con il micobatterio ed è un esempio di reazione di ipersensibilità ritardata.⁶

I falsi positivi possono essere dovuti a una precedente vaccinazione con BCG oppure a un'infezione da micobatteri non tubercolari, tuttavia un infiltrato cutaneo con diametro superiore o uguale a 15 mm è fortemente indicativo di infezione da *M. tuberculosis*.²³⁻²⁵

I falsi negativi possono dipendere da errori nell'esecuzione o nella lettura del test (operatore-dipendenti), ma soprattutto da condizioni che interferiscono con la risposta immunitaria dell'ospite: HIV, linfoma di Hodgkin, terapie corticosteroidi o con immunosoppressivi, malnutrizione, età avanzata. Perciò, un risultato negativo non permette di escludere con certezza la presenza di infezione tubercolare.²⁴

I test IGRA sono basati sulla dimostrazione *in vitro* della liberazione di IFN γ da parte dei linfociti T attivi contro gli antigeni di *M. tuberculosis* (ESAT-6 e CFP-10). Quelli attualmente disponibili sono il QuantiFERON-TB Gold e il T-SPOT.TB.⁶

Il principale vantaggio consiste nel fatto che gli antigeni usati sono specifici per *M. tuberculosis*, mentre non sono presenti in *M. bovis*: perciò, una precedente vaccinazione con BCG non positivizza il test.²⁵ Inoltre, il risultato si ottiene in 24-48 ore, il paziente non deve tornare per la lettura e il risultato del test non è operatore dipendente.⁶

La sensibilità è maggiore per T-SPOT.TB rispetto a QuantiFERON-TB Gold. È stato inoltre dimostrato che per T-SPOT.TB i risultati sono indipendenti dalla deplezione di linfociti T CD4⁺, mentre per TST e QuantiFERON-TB Gold i risultati sono correlati con il grado di immunodeficienza.²⁴

In conclusione, per la diagnosi di tubercolosi latente il NICE (*National Institute for Health and Care Excellence*) raccomanda un approccio in due fasi: la prova cutanea e, se questa è positiva, la conferma mediante test IGRA.⁶

La diagnosi di tubercolosi attiva richiede la dimostrazione di *M. tuberculosis* nei materiali patologici. Per eseguire i prelievi del materiale è quindi necessario individuare la localizzazione della malattia tubercolare: in caso di tubercolosi polmonare le indagini vengono svolte sull'espettorato (spontaneo o indotto), sull'aspirato gastrico e sul BAL; in caso di tubercolosi extrapolmonare il materiale varia in relazione all'organo colpito

(versamento pleurico, pericardico, peritoneale, liquor, urine, feci, aspirato o biopsia linfonodale).³⁴

Nella tubercolosi extrapolmonare la diagnosi è più complessa perché i tessuti contengono pochi batteri: quando possibile, bisogna procedere alla biopsia del tessuto sede dell'infezione poiché la resa diagnostica è superiore a quella del liquido associato (essudati o pus) e poiché permette l'esecuzione dell'esame istologico, che fornisce informazioni importanti per la diagnosi.²³

Anche gli accertamenti radiologici sono importanti ai fini diagnostici, ricordando di utilizzare quello più adeguato sulla base del caso clinico (RMN, TC, RX, utilizzo di mezzi di contrasto).⁶

Per l'esame batteriologico esistono diverse tecniche:

L'*esame microscopico diretto* sfrutta la caratteristica alcol-acido resistenza di *M. tuberculosis* utilizzando la colorazione di Ziehl-Neelsen: essa utilizza come primo colorante la fucsina, che colora i micobatteri, e come secondo il blu di metilene, utilizzato per creare il contrasto.²³ (Figura 10)

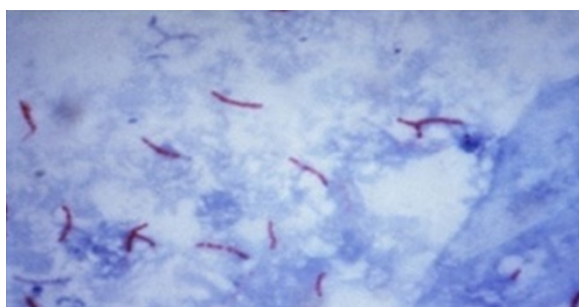


Figura 12- *M. tuberculosis* evidenziato con colorazione di Ziehl-Neelsen.³⁴

Una limitazione di questa tecnica è la sensibilità, che è inferiore al 60%: per aumentarla, infatti, è necessario analizzare con questa metodica tre campioni di espettorato dello stesso paziente. Inoltre non permette di distinguere la specie di *Mycobacterium*, a differenza dell'esame colturale.²³

Più recentemente, è stata introdotta la *microscopia a fluorescenza*: si esegue una colorazione con auramina-rodamina e i bacilli vengono poi esposti alla luce UV e, se hanno trattenuto il colorante, emettono fluorescenza. Questa metodica è più sensibile, specifica e rapida della colorazione di Ziehl-Neelsen.²³

Il *gold standard* per la diagnosi rimane comunque l'*esame colturale* (sensibilità 60-90% e specificità 100%), che permette la diagnosi anche quando la microscopia ottica è negativa, (nella tubercolosi extrapolmonare l'esame microscopico risulta più facilmente negativo), e permette l'esecuzione dell'antibiogramma.³⁴

Per crescere, *M. tuberculosis* necessita di terreni arricchiti; tra i terreni solidi quelli più comunemente usati sono a base di uovo (Lowerstein-Jensen) o di agar (Middlebrook's 7H10 o 7H11): il principale limite è il tempo di comparsa delle colonie (da 3-4 settimane fino a 12 settimane nelle forme paucibacillari).⁶⁻²³ Esse appaiono come dei cordoni di colore giallo-beige a superficie rugosa.³⁴

Tra i terreni liquidi sono utilizzati: (i) il *Mycobacterial growth indicator tube* (MGIT), il cui funzionamento è basato sulla presenza di sale di rutenio, la cui fluorescenza alla luce viola aumenta quando la moltiplicazione batterica induce una diminuzione della concentrazione di ossigeno disciolto; (ii) il BacT/Alert, in cui il metabolismo batterico determina l'acidificazione del mezzo con viraggio del colore della sostanza contenuta sul fondo del flacone; (iii) il Versa TREK, basato sulla rilevazione, nella parte superiore di una bombola chiusa, di variazioni della pressione determinate dall'aumento di produzione o di consumo di gas durante la crescita batterica.³⁴ A differenza dei terreni solidi, le metodiche radiometriche su terreni liquidi consentono di ottenere risultati in 1-2 settimane.⁶

In entrambi i tipi di terreni, dopo la crescita, la differenziazione della specie di *Mycobacterium* è raggiunta usando o sonde di DNA o la cromatografia in fase liquida ad alta risoluzione o l'ibridazione del DNA.⁶

Oggigiorno sono disponibili anche tecniche di biologia molecolare, come la PCR (reazione a catena della polimerasi): questa metodica consente di individuare e amplificare l'RNA ribosomiale o il DNA di *M. tuberculosis*, dando la possibilità di individuare in 24 ore la presenza nei campioni biologici anche di pochissimi micobatteri. La sensibilità e la specificità della PCR sono superiori al 95% in campioni di espettorato positivi all'esame colturale; mentre in campioni negativi la specificità è invariata, ma la sensibilità è del 40-77%.⁶ La PCR è utilizzata soprattutto sui campioni respiratori, infatti nei materiali esaminati in corso di tubercolosi extrapulmonare sono più frequenti risultati falsi positivi.³⁴

Le indicazioni delle principali tecniche diagnostiche per la tubercolosi sono riassunte nella Tabella 1.

Forma clinica	Esame microscopico	Coltura su mezzo liquido	Coltura su mezzo solido	Tecniche di amplificazione genica	IGRA
Tb bacillifera attiva	+++	++	++	+	-
Tb extrapolmonare	(+)	+++	++	+	-
Tb/HIV	(+)	+++	++	+	-
Tb nel bambino	(+)	+++	++	+	+
Tb MDR	(+)	++	++	+++	-
Tb latente	-	-	-	-	++

Tabella 1- Indicazioni delle tecniche diagnostiche per la tubercolosi.³⁴

1.8 Tecniche fenotipiche e genotipiche di rilevazione delle resistenze farmacologiche di *M. tuberculosis*

Con l'aumento dell'incidenza di forme di TB farmaco resistenti la determinazione del profilo di suscettibilità ai farmaci antitubercolari ha assunto un'importanza primaria. E' possibile distinguere due differenti metodi per determinarla: i metodi fenotipici e i metodi genotipici.³⁵

Il razionale dei test fenotipici consiste nel dimostrare la capacità di *Mtb* di crescere su terreni, solidi o liquidi, contenenti farmaci antitubercolari di prima e/o seconda linea. Questo ci permette di determinare la concentrazione critica, ossia la più bassa concentrazione di farmaco antitubercolare che *in vitro* inibisce la crescita del 99% dei ceppi wild type di *Mtb*. Questi test sono molto affidabili, ma hanno lo svantaggio di richiedere lunghi tempi di esecuzione.³⁵⁻³⁶

Il razionale dei test genotipici, detti anche test molecolari, consiste nella rilevazione delle mutazioni che determinano la resistenza ai farmaci antitubercolari.³⁶ Tra questi è incluso il sistema GeneXpert MTB/RIF che consente contemporaneamente di individuare la presenza di *M.tuberculosis* e di verificare la resistenza alla rifampicina in 100 minuti.²³ La sensibilità di questa metodica è superiore al 95% quando l'esame microscopico dell'espettorato è positivo e varia tra il 65 e il 77% quando l'esame microscopico dell'espettorato è negativo. La specificità è compresa tra il 97 e il 100%. Tuttavia, l'esito negativo di questo esame non può escludere del tutto la diagnosi di tubercolosi.³⁴

Esistono poi in commercio molti altri sistemi genotipici, come quelli basati sul Next Generation Sequencing, che permettono di individuare mutazioni geniche determinanti

resistenza ai farmaci antitubercolari. Le mutazioni più comunemente implicate riguardano i geni:³⁶

- inhA e katG: determinano resistenza all'isoniazide.

Dagli studi si evince che in presenza della sola mutazione di inhA l'incremento della dose di isoniazide, fino a un massimo di 15 mg/kg/die, può garantire l'efficacia terapeutica, mentre in presenza della sola mutazione katG l'incremento della dose di isoniazide non si associa ad una maggiore efficacia terapeutica e l'associazione di isoniazide alla terapia antitubercolare sia sconsigliato;

- rpoB: determina resistenza alla rifampicina;
- embB: determina resistenza all'etambutolo;
- rrs: determina resistenza agli aminoglicosidi;
- gyrA e gyrB: determinano resistenza ai fluorchinoloni;

Data la maggiore velocità di esecuzione i test genotipici sono da preferirsi a quelli fenotipici, tuttavia questi ultimi rimangono validi per la valutazione della sensibilità a farmaci come bedaquilina e linezolid o per fluorchinoloni e aminoglicosidi, quando si sospetti la presenza di resistenza a questi farmaci nonostante i test molecolari siano risultati negativi per le principali mutazioni che la determinano.³⁶

1.9 Terapia

1.9.1 Farmaci di prima e seconda linea e relative tossicità

La prognosi e l'evoluzione della tubercolosi sono cambiate radicalmente in seguito all'introduzione dei chemioterapici e degli antibiotici attivi su *M. tuberculosis*. Oggi infatti, la malattia è prevenibile grazie alla chemiopprofilassi e curabile nel 98% dei casi.⁶ Nella terapia antitubercolare si distinguono farmaci di prima linea e farmaci di seconda linea. I *farmaci di prima linea* includono isoniazide, rifampicina, pirazinamide, etambutolo e streptomina. Vengono di seguito elencate le caratteristiche principali di questi farmaci e i loro effetti avversi:

- L'*isoniazide* (INH) è un farmaco battericida che viene assunto per via orale. Può dare epatotossicità di grado variabile da un aumento asintomatico delle transaminasi all'epatite acuta, soprattutto dopo i 60 anni di età o in gravidanza. Per questo è essenziale monitorare gli enzimi epatici per l'intera durata del trattamento: un incremento di tre volte dei valori delle transaminasi è indicazione alla sospensione del trattamento. Inoltre, interferisce con il metabolismo della

niacina (vit B₃) e perciò può causare neuropatia periferica o, più raramente, neurite ottica. Per prevenire questa complicanza i pazienti assumono, per l'intera durata del trattamento, 10 mg/die di piridossina (vit B₆).²⁷⁻³⁷

- La *rifampicina* è un antibiotico battericida appartenente alla classe delle rifamicine. È liposolubile e attraversa facilmente la BEE (barriera emato-encefalica), soprattutto se le meningi sono infiammate. Viene somministrata in combinazione con altri farmaci antibatterici poiché la resistenza nei confronti della rifampicina si sviluppa velocemente. Prima di iniziare la somministrazione, è necessario avvertire i pazienti che la rifampicina colora di rosso tutte le secrezioni corporee (urine, saliva, sudore, lacrime, sperma ed espettorato). Inoltre, è un potente induttore dei citocromi, cosa che causa interazioni con moltissimi altri farmaci, tra cui il warfarin, i corticosteroidi, le statine, gli anticonvulsivanti, alcuni beta-bloccanti, calcio antagonisti, ace-inibitori, i contraccettivi orali, i farmaci antiretrovirali, alcuni antibiotici, antifungini o antimalarici. La rifampicina può infine causare un aumento della glicemia, andando a scompensare i pazienti affetti da diabete o ipotolleranza glucidica.¹⁸⁻³⁷

Bisogna inoltre ricordare che la rifampicina può indurre resistenza crociata alla rifabutina, una rifamicina di nuova generazione.³⁷

- La *pirazinamide* ha un'attività debolmente battericida contro *M. tuberculosis*, ma ha un'azione sterilizzante, soprattutto nelle aree di infiammazione acuta e nell'ambiente intracellulare acido dei macrofagi. Nel corso della terapia è importante monitorare i livelli di acido urico, poiché ne inibisce l'escrezione tubulare: l'iperuricemia che ne risulta è solitamente asintomatica, ma occasionalmente si può verificare un attacco acuto di gotta.³⁷
- L'*etambutolo* viene utilizzato in associazione agli altri farmaci per prevenire o ritardare la comparsa di ceppi resistenti. La principale complicanza del trattamento con etambutolo è la neurite retrobulbare, che si presenta con riduzione dell'acuità visiva, restringimento del campo visivo e cecità ai colori. Queste alterazioni sono transitorie all'inizio, ma la cecità può diventare irreversibile se non viene prontamente interrotto il trattamento.²⁷⁻³⁷
- La *streptomina* è un antibiotico battericida appartenente alla classe degli aminoglicosidi. Viene somministrato per via intramuscolo e raggiunge concentrazioni battericide soprattutto nelle caverne tubercolari. Come tutti gli aminoglicosidi, può causare ototossicità e nefrotossicità.³⁷

I farmaci di seconda linea sono sempre più importanti, data l'aumentata incidenza di ceppi farmaco resistenti.²⁷ La WHO classifica i farmaci antitubercolari di seconda linea in tre gruppi:³⁸

- Gruppo A: comprende i fluorchinoloni (levofloxacin e moxifloxacin), la bedaquilina e il linezolid.
- Gruppo B: comprende clofazimina, cicloserina e terizidone.
- Gruppo C: comprende delamanid, pirazinamide, imipenem-cilastatin, meropenem, amikacina e streptomina, acido para-aminosalicilico (PAS), etionamide/protionamide.

L'etionamide viene spesso utilizzata per il suo basso costo, mentre PAS viene preferito qualora il costo non sia un problema, data la sua tollerabilità e l'assenza di resistenza crociata nei confronti di altri farmaci.³⁷

La bedaquilina (gruppo A) e il delamanid (gruppo C) sono i primi farmaci sviluppati specificatamente per trattare la tubercolosi in più di 40 anni.⁴⁰

La *bedaquilina* è un farmaco battericida, appartenente alla classe delle diarilchinoline, che inibisce l'attività della ATP-sintasi del micobatterio. Numerosi studi hanno dimostrato una più rapida negativizzazione dell'esame microscopico su espettorato nei pazienti con MDR-TB in trattamento con bedaquilina rispetto al gruppo di controllo. L'utilizzo della bedaquilina è controindicato nei pazienti sotto ai 18 anni di età, ma può essere somministrata in casi particolari purché in pazienti sopra i 6 anni di età.³⁹⁻⁴⁰

Il *delamanid* inibisce la sintesi degli acidi micolici, che contribuiscono alla costituzione della parete cellulare di *M. tuberculosis*. Gli studi condotti su questo farmaco sono molto meno numerosi rispetto a quelli condotti sulla bedaquilina, ma è dimostrata comunque una più rapida negativizzazione dell'esame colturale rispetto al gruppo di controllo.³⁹

Entrambi questi farmaci hanno come effetto avverso più grave il prolungamento dell'intervallo QT, che può determinare l'insorgenza di tachiaritmie ventricolari e la morte cardiaca improvvisa.²⁷⁻⁴⁰

Alcuni farmaci non inclusi nei gruppi A-C sono kanamicina e capreomicina, non più raccomandati nei regimi di trattamento di lunga durata per MDR-TB, gatifloxacin, INH ad alte dosi ed acido clavulanico, il cui uso è raccomandato solo in associazione ai carbapenemi.³⁸

1.9.2 Posologia

Secondo le linee guida WHO 2017 il regime di trattamento raccomandato per la tubercolosi polmonare causata da un ceppo sensibile consiste nella somministrazione di

isoniazide (H), rifampicina (R), pirazinamide (Z) ed etambutolo (E) o streptomina (S) per due mesi (*fase intensiva o di induzione*), seguita dalla somministrazione di isoniazide e rifampicina per quattro mesi (*fase di mantenimento*): 2HRZE/4HR.⁶⁻³⁷⁻⁴¹

Numerosi studi condotti negli ultimi anni hanno cercato di trovare un'alternativa per accorciare la durata del trattamento: data l'attività battericida dei fluorchinoloni nei confronti del micobatterio, il regime convenzionale è stato confrontato con un regime di quattro mesi che includeva i fluorchinoloni. Nonostante quest'ultimo abbia dimostrato una negativizzazione più rapida dell'esame microscopico dell'espettorato, è stato scartato perché l'incidenza di recidiva a diciotto mesi di follow-up era superiore rispetto a quella riscontrata con il regime di trattamento convenzionale.⁴²

La frequenza di somministrazione raccomandata è di una volta al giorno, per entrambe le fasi del trattamento. Infatti, numerosi studi hanno dimostrato che la somministrazione della terapia tre volte alla settimana, ammessa nelle linee guida WHO 2010, aumenta il rischio di recidiva, di comparsa di farmaco resistenza e di fallimento terapeutico.⁴¹

I dosaggi giornalieri dei farmaci di prima linea sono indicati in **tabella 2**.

farmaco	dose (mg/kg)	dose massima giornaliera (mg)
isoniazide	5	300
rifampicina	10	600
pirazinamide	25	2000
etambutolo	15-25	-
streptomina	15	1000

Tabella 2- Posologia dei farmaci di prima linea usati nella terapia antitubercolare.⁶

Poiché il trattamento nella fase di induzione prevede l'assunzione di quattro farmaci, per ridurre il numero di compresse che il paziente deve assumere ogni giorno si raccomanda l'utilizzo delle compresse FDC (fixed-dose combination, una compressa contiene due o più farmaci antitubercolari di prima linea) che permette di aumentare l'aderenza al trattamento. Inoltre, una maggiore compliance alla terapia si può ottenere attraverso la DOT (directly observed treatment) che consiste nell'assumere la terapia sotto osservazione diretta da parte di un'altra persona, non necessariamente un operatore sanitario, ma anche un membro della famiglia, un amico. Rispetto ai pazienti in SAT (self-administered therapy), quelli in DOT hanno dimostrato tassi migliori di successo terapeutico, di aderenza e di conversione dell'espettorato dopo due mesi di trattamento.⁴¹

Il ricorso alla DOT consente inoltre di evitare interruzioni nel trattamento. Quando si verifica un'interruzione nel trattamento bisogna valutare se ricominciare il trattamento dall'inizio o se proseguire quello già iniziato: in genere, un'interruzione di lunga durata e nelle fasi precoci di trattamento, quando la carica micobatterica e la possibilità di sviluppare resistenza sono più elevate, si associa alla necessità di ricominciare il trattamento dalla fase di induzione.⁴³

Fase dell'interruzione	Dettagli dell'interruzione	Approccio
Fase di induzione	L'interruzione ha durata <14 giorni	Continuare il trattamento per completare tutte le dosi programmate, ammesso che esse vengano completate entro tre mesi
	L'interruzione ha durata ≥14 giorni	Ricominciare il trattamento dall'inizio
Fase di mantenimento	Somministrato ≥80% delle dosi e microscopia dell'espettorato negativo per AFB al test iniziale	Può non essere necessario prolungare il trattamento
	Somministrato ≥80% delle dosi e microscopia dell'espettorato positivo per AFB al test iniziale	Continuare la terapia per completare tutte le dosi programmate
	Somministrato <80% delle dosi e tempo totale delle interruzioni è <3 mesi	Continuare la terapia per completare tutte le dosi programmate, a meno che non ci sia stata un'interruzione consecutiva >2 mesi Se il trattamento non può essere completato entro il tempo previsto per il regime utilizzato, ricominciare il trattamento dalla fase di induzione
	Somministrato <80% delle dosi e interruzione di durata ≥3 mesi	Ricominciare il trattamento dall'inizio

Tabella 3- Approccio alle interruzioni del trattamento.⁴³

Abbreviazioni: AFB, acid-fast bacilli

Nella tubercolosi extrapolmonare si raccomanda lo stesso regime di trattamento delle forme polmonari, i.e. 2HRZE/4HR.³⁵ Tuttavia, fanno eccezione alcune forme:

4. Nella meningite tubercolare il trattamento viene prolungato per 9-12 mesi: 2HRZE/7- 10HR.³⁷ Poiché l'etambutolo attraversa poco la BEE anche quando le meningi sono infiammate, alcuni studiosi hanno suggerito di sostituirlo con i fluorchinoloni (FQs) o con la streptomina.³⁷⁻⁴³ Nelle forme MDR possono essere utilizzati anche gli aminoglicosidi, che passano facilmente la BEE. In pazienti con forme MDR si raccomanda di prolungare il trattamento per 18- 24 mesi.⁴³
5. Nella tubercolosi ossea o articolare il trattamento viene somministrato per 9 mesi, data la difficoltà nel valutare la risposta al trattamento.³⁷

Inoltre, in alcune forme di tubercolosi extrapolmonare è stata dimostrata l'efficacia dell'associazione di corticosteroidi al convenzionale regime antitubercolare.

Le linee guida WHO 2017, IDSA (*Infectious Diseases Society of America*) e NICE sono concordi nel raccomandare, in corso di meningite tubercolare, l'utilizzo di desametasone o prednisolone per le prime 6-8 settimane di trattamento, scalando progressivamente la dose. Numerosi studi hanno infatti dimostrato un'associazione tra la terapia

corticosteroidea e la riduzione della mortalità, delle recidive di malattia e della persistenza di disabilità nei pazienti con meningite tubercolare.⁴¹

L'utilizzo di corticosteroidi nella pericardite tubercolare è invece dibattuto: le linee guida NICE raccomandano infatti l'utilizzo di prednisolone per os a una dose iniziale di 60 mg/die, scalando progressivamente la dose nelle 2-3 settimane successive.⁴⁴ Le linee guida IDSA non raccomandano invece l'utilizzo di routine dei corticosteroidi nella pericardite tubercolare, ma solo in pazienti con versamento pericardico abbondante, con segni precoci di costrizione o con alti livelli di markers e cellule infiammatori nel liquido pericardico.⁴³

1.9.3 Monitoraggio durante il trattamento

Tutti i pazienti con tubercolosi dovrebbero essere monitorati per valutare la loro risposta al trattamento.³⁷ Nei pazienti con sospetta tubercolosi polmonare prima di iniziare il trattamento si devono raccogliere, a distanza di 8-24 ore, tre campioni di espettorato (spontaneo o indotto mediante broncoscopia o salina ipertonica aerosolizzata) per gli esami microscopico e colturale; inoltre, almeno un campione dev'essere testato con un test molecolare rapido.⁴³

Un test molecolare rapido per la resistenza ai farmaci viene eseguito prima di iniziare il trattamento nei pazienti a rischio per tubercolosi farmaco-resistente, ossia pazienti che hanno già assunto la terapia antitubercolare, pazienti che sono entrati a contatto con soggetti affetti da MDR-Tb o XDR-Tb, pazienti con sospetta o confermata resistenza ai farmaci di prima linea, pazienti che non tollerano la rifampicina o che hanno un esame colturale positivo dopo più di tre mesi di trattamento.⁴³

Nei pazienti con tubercolosi polmonare in terapia con farmaci di prima linea ed esame microscopico positivo all'inizio del trattamento, la WHO raccomanda l'esecuzione dell'esame microscopico su espettorato alla fine della fase di induzione del trattamento:³⁷

- a. Qualora l'esame microscopico risulti positivo, deve essere ripetuto alla fine del terzo mese di trattamento; se anche questo risultasse positivo, si raccomanda l'esecuzione dell'esame colturale e del DST (drug sensibility test). L'esame colturale viene eseguito in questa fase di trattamento per poter individuare la presenza di ceppi farmaco-resistenti senza aspettare il quinto mese di trattamento per modificare la terapia. Infatti, il riscontro in qualunque fase del trattamento di ceppi farmaco-resistenti è sufficiente per dichiarare il fallimento terapeutico e modificare la terapia.

- b. Qualora l'esame microscopico risulti negativo, deve essere ripetuto alla fine del quinto e del sesto mese di trattamento. Se uno dei due esami risultasse positivo, si raccomanda l'esecuzione dell'esame colturale e del DST. Si parla in questo caso di fallimento terapeutico, che richiede l'inizio di un nuovo trattamento antitubercolare.

Nei pazienti con tubercolosi polmonare ed esame microscopico negativo (o non eseguito) prima di iniziare il trattamento, la WHO raccomanda l'esecuzione dell'esame microscopico alla fine della fase di induzione. Qualora questo risulti negativo, non sono necessari ulteriori accertamenti durante la restante durata del trattamento.³⁷

Nei pazienti con tubercolosi extrapolmonare si raccomanda il monitoraggio clinico per valutare la risposta alla terapia.³⁷

1.9.4 Schemi di trattamento in pazienti con tubercolosi farmaco resistente

Le linee guida WHO 2019 raccomandano un regime di 6 mesi con i farmaci (H)REZ-levofloxacina (Lfx) per il trattamento delle forme di tubercolosi resistente all'isoniazide. Il trattamento deve essere iniziato solo dopo aver eseguito il DST o in attesa dei risultati di quest'ultimo, qualora sia fortemente sospettata la presenza di Hr-TB e sia esclusa la resistenza alla rifampicina. Qualora i risultati del DST indichino la suscettibilità del micobatterio all'INH, è necessario sospendere la levofloxacina e continuare con il regime 2HREZ/4HR. Se al contrario la resistenza all'INH fosse evidenziata dopo alcuni mesi dall'inizio del trattamento convenzionale (2HRZE/4HR), sarebbe necessario introdurre la levofloxacina per 6 mesi, andando di conseguenza a prolungare la somministrazione degli altri farmaci.³⁸

La durata del trattamento è determinata dalla necessità di completare 6 mesi di terapia con levofloxacina, che permette di aumentare il tasso di successo del trattamento e di ridurre la mortalità. La levofloxacina è controindicata quando non si può escludere una forma RR-TB, quando è nota o sospetta la resistenza alla levofloxacina, quando il paziente è allergico ai fluorochinoloni, durante la gravidanza o l'allattamento.³⁸

La possibilità di aggiungere INH al regime REZ-levofloxacina è stata a lungo dibattuta: il regime standard viene solitamente somministrato sotto forma di compresse FDC per incrementare l'aderenza dei pazienti alla terapia e l'assunzione di INH, contenuta nelle compresse FDC, non è stata associata a un peggioramento degli outcomes. Alcuni studi hanno inoltre dimostrato che, a seconda della mutazione responsabile della Hr-Tb, l'aggiunta di una dose elevata di INH (10-15 mg/kg/die) può aumentare l'efficacia del trattamento.³⁸

Nelle forme MDR/RR-TB si distinguono un regime di trattamento a lunga durata e uno a breve durata. La WHO raccomanda nel regime a lunga durata di somministrare il trattamento per 18-20 mesi e di continuare il trattamento per 15-17 mesi dopo la negativizzazione dell'esame colturale. Infatti, la microscopia e la coltura su espettorato sono importanti per monitorare la risposta al trattamento e solitamente si negativizzano entro i primi mesi dall'inizio del trattamento. La WHO raggruppa i farmaci da utilizzare in questi regimi in tre gruppi, come indicato in **tabella 4**.

Groups & steps	Medicine	
Group A: Include all three medicines	levofloxacin OR moxifloxacin	Lfx Mfx
	bedaquiline ^{2,3}	Bdq
	linezolid ⁴	Lzd
Group B: Add one or both medicines	clofazimine	Cfz
	cycloserine OR terizidone	Cs Trd
Group C: Add to complete the regimen and when medicines from Groups A and B cannot be used	ethambutol	E
	delamanid ^{3,5}	Dlm
	pyrazinamide ⁶	Z
	imipenem–cilastatin OR meropenem ⁷	Ipm–Cln Mpm
	amikacin (OR streptomycin) ⁸	Am (S)
	ethionamide OR prothionamide ⁹	Eto Pto
	<i>p</i> -aminosalicylic acid ⁹	PAS

Tabella 4- Gruppi dei farmaci utilizzati per il regime a lunga durata in pazienti con MDR-TB.³⁸

Quando possibile, devono essere inclusi nel trattamento tutti e tre i farmaci di gruppo A e un farmaco di gruppo B, in modo da mantenere tre farmaci quando al sesto mese viene interrotta la bedaquilina, la quale può essere assunta per un periodo massimo di sei mesi.³⁸⁻⁴⁰ Se vengono utilizzati solo uno o due farmaci del gruppo A, entrambi i farmaci di gruppo B devono essere inclusi nel trattamento. Se il regime non può essere completato solo con i farmaci di gruppo A e B, è necessario completarlo facendo ricorso ai farmaci del gruppo C. Si raccomanda di utilizzare il numero minimo di farmaci necessari per ottenere la guarigione, solitamente quattro nella fase di induzione, che dura 6 mesi, e tre in quella di mantenimento.³⁸

È inoltre raccomandato che tutti i pazienti siano sottoposti a DST prima di iniziare il trattamento, in modo da massimizzarne l'efficacia.³⁸

Il regime di breve durata si protrae per 9-12 mesi: la fase di induzione può durare 4-6 mesi e prevede la somministrazione di kanamicina, moxifloxacina, clofazimina,

etionamide, etambutolo, pirazinamide e INH ad alte dosi; la fase di mantenimento dura cinque mesi e prevede la somministrazione di moxifloxacin, clofazimina, etambutolo e pirazinamide.³⁸

Le controindicazioni al regime di breve durata sono la presenza di resistenza o intolleranza a un qualunque farmaco incluso in questo regime, precedente esposizione di durata superiore a un mese a uno o più farmaci di seconda linea del regime a breve durata, gravidanza, tubercolosi disseminata/meningea o del SNC, tubercolosi extrapolmonare in pazienti con HIV.³⁸

1.9.5 Schemi di trattamento in pazienti HIV positivi

Nei pazienti HIV positivi con tubercolosi le linee guida WHO 2010 raccomandano di iniziare il prima possibile il trattamento antitubercolare, seguito dalla somministrazione della terapia antiretrovirale (HAART, *Highly Active AntiRetroviral Therapy*) e di cotrimossazolo (profilassi per l'infezione da *Pneumocystis jirovecii*). Il regime di trattamento, in assenza di ceppi farmaco resistenti, corrisponde a quello convenzionale (2HRZE/4HR) e deve essere somministrato giornalmente per tutta la durata del trattamento.³⁷

La terapia antiretrovirale riduce del 90% l'incidenza di tubercolosi nei singoli individui e la frequenza di recidive del 50%, perciò si raccomanda di iniziare la HAART il prima possibile, e comunque entro le prime 8 settimane dall'inizio del trattamento antitubercolare. La precoce introduzione della HAART riduce la mortalità nei pazienti, migliora gli outcomes della malattia tubercolare e riduce l'incidenza della *Sindrome infiammatoria da immunoripristinazione* (IRIS).³⁷ Quest'ultima è una reazione infiammatoria che si manifesta dopo 20-45 giorni dall'inizio della terapia antiretrovirale e si presenta con febbre elevata e linfadenomegalia a livello delle stazioni interessate dall'infezione tubercolare. È scatenata da un'abnorme reazione immune agli antigeni tubercolari a seguito di un recupero immunitario che si verifica dopo l'inizio della HAART.⁶

Nei pazienti con severa immunosoppressione (CD4<50/mm³) la HAART deve essere iniziata entro 2 settimane dall'inizio del trattamento antitubercolare.³⁷

In caso di tubercolosi farmaco-resistente si raccomanda di seguire le stesse indicazioni valide per i pazienti con HIV e tubercolosi pansensibile per decidere quando iniziare la HAART.³⁸

1.9.6 Trattamento chirurgico della tubercolosi

Prima dell'avvento della chemioterapia antitubercolare la chirurgia era un pilastro fondamentale nella terapia della tubercolosi polmonare. Il rationale del trattamento chirurgico era basato sul fatto che il collasso della zona polmonare affetta riducesse l'ossigenazione e quindi rendesse più difficile la sopravvivenza di *M. tuberculosis*.²³

La comparsa sempre più frequente di ceppi MDR/XDR ha portato alla reintroduzione del trattamento chirurgico per queste forme di tubercolosi, in associazione a un regime di trattamento per MDR-Tb. In questo caso il rationale è basato sull'eliminazione di una parte del tessuto con patologia intrattabile e sulla riduzione della carica batterica. In questi pazienti viene eseguita una resezione polmonare parziale o totale, ma numerosi studi hanno dimostrato la superiorità della prima, con un netto miglioramento della prognosi rispetto ai pazienti sottoposti a pneumonectomia totale.³⁸

Il trattamento chirurgico è inoltre utilizzato tuttora in alcune forme di tubercolosi extrapolmonare, come la meningite tubercolare, la pericardite tubercolare e la malattia di Pott. Una complicanza della meningite tubercolare è infatti l'idrocefalo ostruttivo: se non si riesce a risolvere questa complicanza mediante l'utilizzo di diuretici è necessario inserire uno shunt ventricolo-peritoneale. Inoltre, in tutti i pazienti con pericardite costrittiva è indicata la pericardiectomia. Infine, la malattia di Pott può causare compressione midollare che richiede un intervento di decompressione urgente; in caso di coinvolgimento vertebrale l'intervento chirurgico potrebbe essere richiesto se c'è la formazione di un ascesso, una cifosi severa (>60°) o se la cifosi può guarire lasciando come esito una deformità severa.²³

1.10 Prevenzione

La vaccinazione mediante il vaccino BCG è stata finora la principale tecnica di prevenzione per l'infezione tubercolare. Si tratta di un vaccino vivo, ottenuto mediante l'attenuazione di un ceppo di *M. bovis* e somministrato per la prima volta all'uomo nel 1921.²⁵

Il vaccino BCG è il più diffuso nel mondo: infatti, più dell'80% dei bambini nei paesi in via di sviluppo viene vaccinato. Nonostante ciò, la sua efficacia è stata ampiamente dibattuta e sono stati svolti numerosi trials clinici per riuscire a valutarne l'efficacia. Questi hanno dimostrato che il vaccino BCG conferisce protezione soprattutto nei confronti di tubercolosi disseminata e di meningite tubercolare nei bambini; inoltre, conferisce protezione anche nei confronti della lebbra.²³⁻²⁵

L'efficacia della vaccinazione negli adulti è meno chiara: una meta analisi basata su diversi studi clinici per valutare l'efficacia del BCG contro la tubercolosi polmonare ha dimostrato che BCG conferisce protezione in un range tra 0-80% dei casi. Il grado di protezione sembra inoltre ridursi con l'avvicinamento all'Equatore, probabilmente a causa di una esposizione precedente alla vaccinazione a ceppi non tubercolari di micobatteri. Per queste ragioni è ormai comunemente accettato che il vaccino BCG non possa essere utilizzato per ridurre l'incidenza della tubercolosi in una popolazione.²³⁻²⁵

Il vaccino BCG è sicuro e le complicanze sono estremamente rare. Normalmente, entro 10-14 giorni dalla somministrazione si forma una piccola papula nel sito di inoculo, che poi scompare spontaneamente. Le reazioni locali avverse non sono comuni e, tra queste, quelle che più comunemente si sviluppano sono: lesioni necrotiche a causa di un'eccessiva reazione di ipersensibilità ritardata, formazione di ascesso sottocutaneo, formazione di cheloide (rischio ridotto se l'iniezione viene eseguita sulla cute soprastante l'inserzione del deltoide) e la linfoadenopatia. Quest'ultima si sviluppa normalmente a livello dei linfonodi che drenano l'area di inoculo, solitamente quelli ascellari, ma talvolta anche quelli laterocervicali. Le reazioni disseminate sono estremamente rare ed associate a un'elevata mortalità; si verificano soprattutto in bambini immunocompromessi.²³

Attualmente, sono in studio nuovi vaccini i cui razionali si basano su due diverse strategie: rimpiazzare il vaccino BCG con uno nuovo e più efficace oppure potenziare l'effetto protettivo del BCG.²³

2. Materiali e Metodi

2.1 Scopo dello studio

Finalità dello studio è la valutazione dei dati epidemiologici ricavati dai pazienti affetti da tubercolosi e ricoverati presso la Clinica di Malattie Infettive dell'Ospedale San Martino IRCCS-IST di Genova dal 1° Gennaio 2016 al 31 Agosto 2019.

Finalità secondarie sono l'analisi dell'andamento temporale di tali dati mediante il confronto con quelli ricavati dalla coorte relativa agli anni 2000-2015, e il confronto tra la casistica dei pazienti ricoverati presso l'Ospedale Policlinico San Martino e quella dei pazienti ricoverati sul territorio ligure negli anni 2016-2019.⁴⁵

2.2 Materiali e Metodi

Nello studio sono stati inclusi i pazienti che nel periodo compreso tra il 1° Gennaio 2016 e il 31 Agosto 2019 sono stati ricoverati e trattati per malattia tubercolare presso la Clinica di Malattia Infettive dell'Ospedale San Martino IRCCS-IST di Genova.

Le informazioni sono state ricavate dalle cartelle cliniche, documentanti: il periodo di degenza dei pazienti, il motivo del ricovero, la diagnosi alla dimissione, gli esami microbiologici e radiologici effettuati, il profilo di sensibilità e resistenza ai farmaci antitubercolari di prima linea e la terapia effettuata. Sono state inoltre prese in visione le relazioni compilate durante le visite ambulatoriali di follow-up svolte nel periodo successivo alla dimissione.

Non è stato necessario ottenere il consenso al trattamento dei dati, poiché la loro analisi ed elaborazione non ha reso possibile l'identificazione dei pazienti.

Nell'analisi sono stati considerati i seguenti parametri:

1. età alla diagnosi: per quanto riguarda i pazienti ricoverati in due o più anni differenti, si è scelto di considerare l'età al primo ricovero;
2. sesso;
3. etnia (caucasica, afrocaraibica, latino-americana, asiatica);
4. localizzazione di malattia attiva: polmonare, extrapolmonare, polmonare ed extrapolmonare associate, disseminata (coinvolgimento di almeno tre apparati/organi diversi o isolamento da sangue);⁴⁶
5. fattori di rischio:

- a. anamnestici: anamnesi patologica remota positiva per tubercolosi, contatto noto con individuo affetto, viaggio recente in paese endemico;
 - b. co-infezione con HIV;
6. tipo di diagnosi:
- a. microbiologicamente documentata: basata sulla positività di uno tra esame diretto, PCR, esame colturale;
 - b. istologicamente documentata: basata sul rilevamento di quadro istologico suggestivo di tubercolosi (granulomatosi caseosa/necrotizzante);
 - c. clinicamente documentata: basata su quadro clinico suggestivo di tubercolosi, che tende a migliorare dopo l'inizio del trattamento;
7. tipologia di paziente:⁴⁶
- a. new case: diagnosi di TB in paziente mai trattato in precedenza o trattato per meno di un mese;
 - b. re-treated case: paziente a cui in passato è stata diagnosticata la tubercolosi e che è stato trattato con farmaci antitubercolari per almeno un mese, nel quale viene posta di nuovo una diagnosi certa o clinica di TB^[1]. Sulla base dell'esito dell'ultimo ciclo di trattamento antitubercolare si distinguono le seguenti categorie:
 - i. Recidiva: paziente che in passato è stato dichiarato guarito per TB avendo completato un ciclo di terapia antitubercolare, in cui è nuovamente posta diagnosi certa o clinica di TB;
 - ii. Ritattamento dopo fallimento terapeutico: paziente con persistenza di positività degli esami batteriologici (microscopico o colturale) dopo 4 mesi di trattamento adeguato in cui è posta di nuovo una diagnosi certa o clinica di TB;
 - iii. ritattamento dopo trattamento interrotto: interruzione del trattamento (durato almeno 1 mese) per almeno 2 settimane (fase intensiva) o 2 mesi (fase di mantenimento) e in cui è posta di nuovo una diagnosi accertata o clinica di TB;⁴⁷
8. incidenza annua:

[1] Diagnosi certa: basata sull'isolamento colturale di *Mtb* oppure positività dell'esame microscopico diretto/istologico e del test molecolare per *Mtb* in presenza di segni clinici/radiologici suggestivi di TB attiva; diagnosi clinica: basata sul riscontro di segni e sintomi e/o reperti di indagini strumentali suggestivi di TB attiva, in assenza di conferma microbiologica.⁴⁴

- a. qualora un paziente sia stato ricoverato più di una volta nello stesso anno è stato considerato come singolo caso;
 - b. qualora un paziente sia stato ricoverato in anni differenti si è scelto di considerare solo il caso relativo all'anno di ricovero meno recente, valutando il paziente come "re-treated case";
9. disponibilità dell'antibiogramma per la ricerca di resistenze farmacologiche;
 10. disponibilità del test genico molecolare (tgm) per la ricerca di mutazioni che inducano resistenza farmacologica (inhA, katG, rpoB, gyrA, rrs);
 11. resistenze alla terapia antitubercolare (INH-R, RMP-R, MDR, XDR);
 12. terapia effettuata;
 13. tossicità ai farmaci antitubercolari: sono stati considerati i valori superiori all'USL (upper superior limit) di ALT, AST, bilirubina e creatinina e i pazienti sono poi stati suddivisi tra i vari gradi della classificazione CTCAE (Common Terminology Criteria for Adverse Effects);
 14. *Outcome* di trattamento:⁴⁶
 - a. guarigione: paziente con diagnosi certa di TB farmacosensibile in cui si riscontrano due esami colturali negativi (di cui uno al termine del trattamento), se la diagnosi era colturale, o tre esami diretti negativi (di cui uno al termine del trattamento), se la diagnosi era microscopica;
 - b. trattamento completato: paziente con diagnosi certa o clinica di TB farmacosensibile che ha completato il trattamento standard senza evidenze di fallimento terapeutico, in cui non sia stata documentata la conversione batteriologica (se la diagnosi era colturale) o la negatività dell'esame diretto o molecolare (se la diagnosi era clinica) a fine trattamento;
 - c. fallimento terapeutico: paziente con diagnosi di TB farmacosensibile in cui persista la positività degli esami batteriologici (colturale, microscopico, molecolare) dopo 4 mesi di trattamento adeguato;
 - d. perso al follow-up: paziente che non inizia o interrompe il trattamento per almeno due mesi consecutivi;
 - e. decesso: paziente che muore in corso di trattamento antitubercolare;
 - f. non valutabile: paziente in cui non si può definire o non si conosce l'esito;
- ai fini dello studio, si è scelto di considerare i pazienti con esito di guarigione e trattamento completato come facenti parte di un'unica categoria definita "successo terapeutico"; inoltre i pazienti appartenenti alle categorie "perso al

follow-up” e “non valutabile” sono stati considerati tutti come pazienti persi al follow-up.

I dati relativi alla coorte 2016-2019 sono stati in seguito confrontati con quelli relativi alla coorte 2000-2015 per quanto riguarda i parametri: età alla diagnosi, sesso, etnia, localizzazione di malattia, fattori di rischio anamnestici e co-infezione con HIV, numero di casi all'anno, disponibilità dell'antibiogramma e del tgm e conseguente valutazione delle resistenze alla terapia antitubercolare. Non è stato invece possibile confrontare l'*outcome* di trattamento in quanto tale parametro non è stato valutato nello studio di coorte 2000-2015.

Lo studio della prevalenza delle resistenze farmacologiche ha incluso inoltre pazienti ricoverati in altri ospedali di Genova e della Liguria, in cui i test microbiologici e i DST siano stati eseguiti presso il Laboratorio di analisi dell'Ospedale San Martino IRCCS-IST di Genova.

3. Risultati

3.1 Pazienti con tubercolosi ricoverati e seguiti negli anni 2016-2019 presso la Clinica di Malattie Infettive dell'Ospedale Policlinico San Martino

La casistica dello studio comprende 134 pazienti ricoverati per malattia tubercolare nel periodo compreso tra il 1° Gennaio 2016 e il 31 Dicembre 2019.

Tra questi, 30 pazienti sono stati ricoverati nel 2016 (22,4% del totale), 41 nel 2017 (30,6%), 31 nel 2018 (23,1%) e 32 nel 2019 (23,9%). (Figura 13)

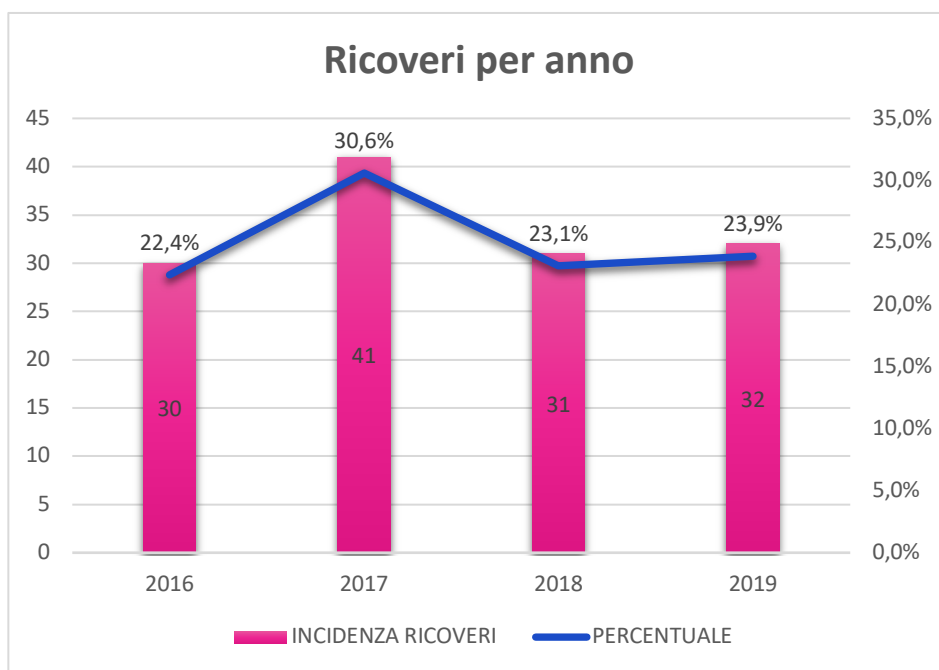


Figura 13- Numero annuo di ricoveri per TB in numero assoluto e percentuale.

Per quanto riguarda il numero di ricoveri, 121 pazienti (90,3% del totale) hanno avuto un singolo ricovero per episodio di malattia tubercolare, 13 pazienti (9,7%) sono stati ricoverati almeno una seconda volta per lo stesso episodio di malattia (per 3 pazienti il ricovero presso l'Ospedale San Martino rappresentava il secondo ricovero, mentre il primo era stato presso altri ospedali).

Le caratteristiche generali dei 134 pazienti sono riassunte in Tabella 5.

CARATTERISTICHE GENERALI DEI PAZIENTI	VALORE
SESSO MASCHILE, n (%)	94 (70,1%)
SESSO FEMMINILE, n (%)	40 (29,9%)
ETA' MEDIANA ALLA DIAGNOSI (intervallo)	40 anni (17-89)
Maschi	40 anni
Femmine	44 anni
ETNIA CAUCASICA, n (%)	67 (50,0%)
ETNIA NON CAUCASICA, n (%)	67 (50,0%)
FATTORI ANAMNESTICI DI RISCHIO, n (%) -contatto con soggetto TB positivo -anamnesi patologica remota positiva per TB -viaggio o provenienza in un Paese ad alta endemia (<1 anno prima della diagnosi)	37 (27,6%)
INFEZIONE DA HIV, n (%)	6 (4,4%)
LOCALIZZAZIONE DELLA MALATTIA TUBERCOLARE	
Polmonare	91 (67,9%)
Esclusivamente polmonare	76 (83,5%)
Polmonare ed extrapolmonare	15 (16,5%)
Esclusivamente extrapolmonare	26 (19,4%)
Malattia disseminata	17 (12,7%)
TIPO DI DIAGNOSI	
Microbiologicamente documentata ^[2]	122 (91,0%)
Istologicamente documentata	6 (4,5%)
Clinicamente documentata	6 (4,5%)

Tabella 5- Caratteristiche generali della coorte in studio

Dall'analisi della distribuzione dei pazienti per fascia d'età (figura 14) è stata rilevata una maggiore prevalenza di pazienti (39,6% del totale) che avevano al momento della diagnosi un'età compresa tra i 25 e i 44 anni, mentre il 24,6% aveva un'età compresa tra 45 e 64 anni, il 19,4% superiore ai 64 anni e il 16,4% compresa tra i 15 e i 24 anni. Nello studio non erano presenti pazienti di età inferiore ai 14 anni, in quanto facenti parte dei pazienti pediatrici.

^[2] 4 pazienti con diagnosi microbiologicamente documentata presentavano anche la conferma istologica.

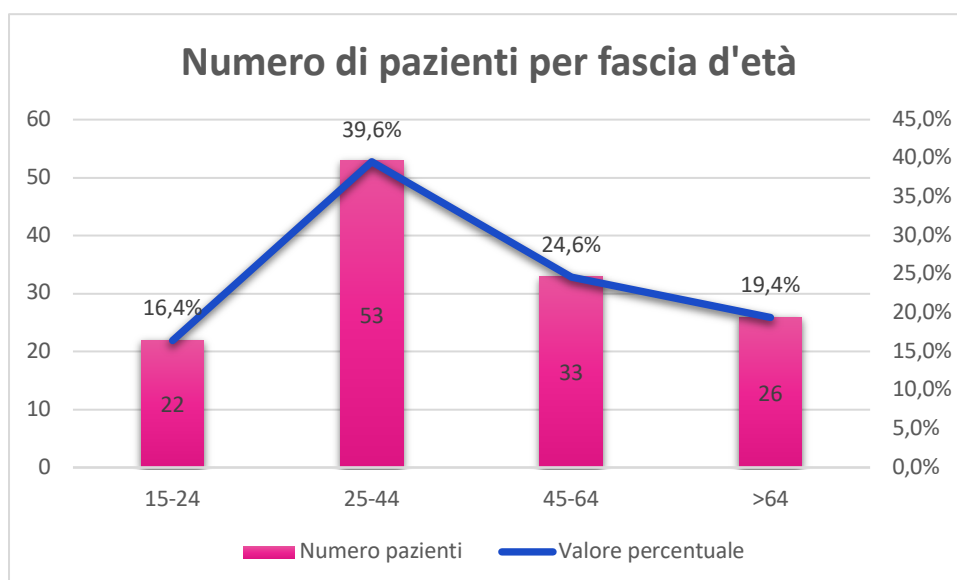


Figura 14- Numero di pazienti con TB per fascia d'età.

L'analisi percentuale per singolo anno di studio dimostra che negli anni 2016 e 2019 non c'è prevalenza dell'etnia caucasica su quella non caucasica, nell'anno 2017 il 51,2% dei pazienti apparteneva invece all'etnia non caucasica e, tra questi, il 57,1% all'etnia afrocaraiibica, mentre nel 2018 si evidenzia una prevalenza dell'etnia caucasica. È inoltre evidente che tra le etnie non caucasiche quella afrocaraiibica è la più rappresentata in tutti gli anni studiati. (Tabella 6)

Complessivamente, non c'è prevalenza dell'etnia caucasica rispetto a quella non caucasica.

ANNO	TOTALE PAZIENTI	ETNIA CAUCASICA		ETNIA NON CAUCASICA		AFROCARAIBICA		LATINOAMERICANA		ASIATICA	
		Numero	Percentuale	Numero	Percentuale	Numero	Percentuale	Numero	Percentuale	Numero	Percentuale
2016	30	15	50,0%	15	50,0%	11	73,3%	3	20,0%	1	6,7%
2017	41	20	48,8%	21	51,2%	12	57,1%	7	33,3%	2	9,5%
2018	31	16	51,6%	15	48,4%	7	46,7%	4	26,7%	4	26,7%
2019	32	16	50,0%	16	50,0%	9	56,3%	4	25,0%	3	18,8%
totale	134	67	50,0%	67	50,0%	39	58,21%	18	26,87%	10	14,93%

Tabella 6- Analisi percentuale dell'etnia dei pazienti con TB suddivisi per anno di ricovero.

Considerando invece le nazionalità più rappresentate è stato possibile osservare che tra i caucasici 57 pazienti (85,1%) erano italiani e 7 rumeni (10,4%), mentre tra i non caucasici 11 erano ecuadoriani (16,4%) e 9 senegalesi (13,4%).

Come si evince dalla figura 15 nella popolazione in studio è presente una diversa distribuzione delle etnie in base alla fascia d'età considerata: in particolare l'etnia

caucasica costituisce la maggior parte del campione nella fascia d'età compresa tra i 45 e i 64 anni e superiore ai 65 anni (rispettivamente il 72,7% e l'84,6% del totale), mentre l'etnia non caucasica costituisce la maggior parte del campione nella fascia d'età tra i 15 e i 24 anni e tra i 25 e i 44 anni (rispettivamente l'90,9% e il 64,2% del totale).

L'età mediana è risultata 57 anni per i pazienti caucasici e 29 per i non caucasici.

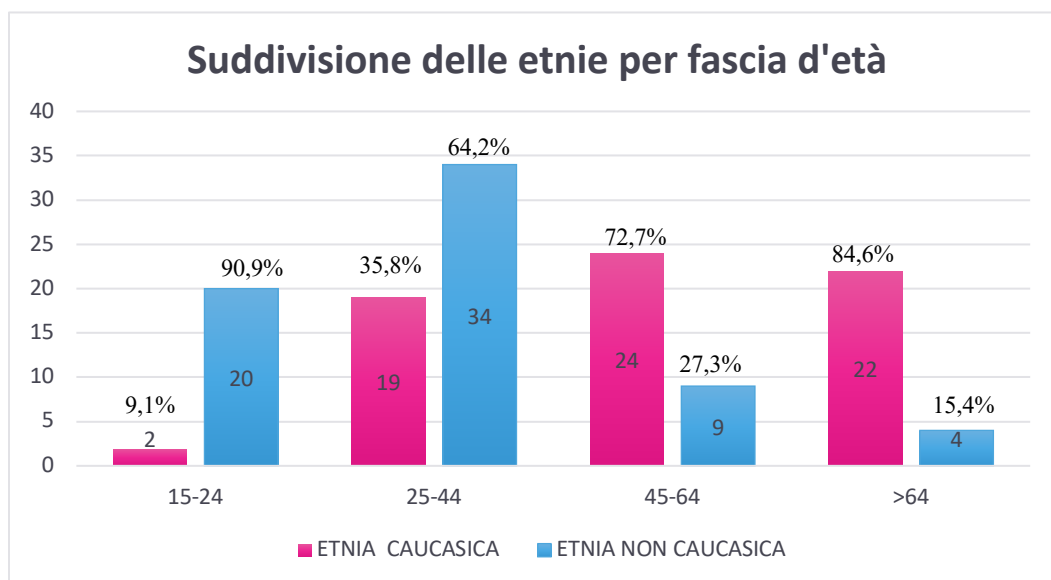


Figura 15- Valore assoluto e percentuale dei pazienti di etnia caucasica e non caucasica in base alla fascia d'età.

Il 92,5% dei pazienti appartiene alla categoria “new case”, mentre il restante 7,5% alla categoria re-treated case; tra questi, il 60,0% (6 pazienti) presenta recidiva e il 40,0% (4 pazienti) presenta riattivazione a seguito di interruzione del trattamento antitubercolare.

Considerando la localizzazione della malattia attiva emerge che il 56,7% dei pazienti presenta coinvolgimento esclusivamente polmonare, il 19,4% coinvolgimento esclusivamente extrapolmonare, l'11,2% coinvolgimento sia polmonare sia extrapolmonare, il 12,7% malattia tubercolare disseminata. Tra i pazienti affetti da tubercolosi disseminata l'82,4% (14 pazienti su 17 totali) appartiene all'etnia non caucasica e, di questi, il 71,4% (10 pazienti) appartiene all'etnia afrocaribica.

La figura 16 mostra la diversa localizzazione di malattia tubercolare in valore numerico e percentuale nelle diverse etnie.

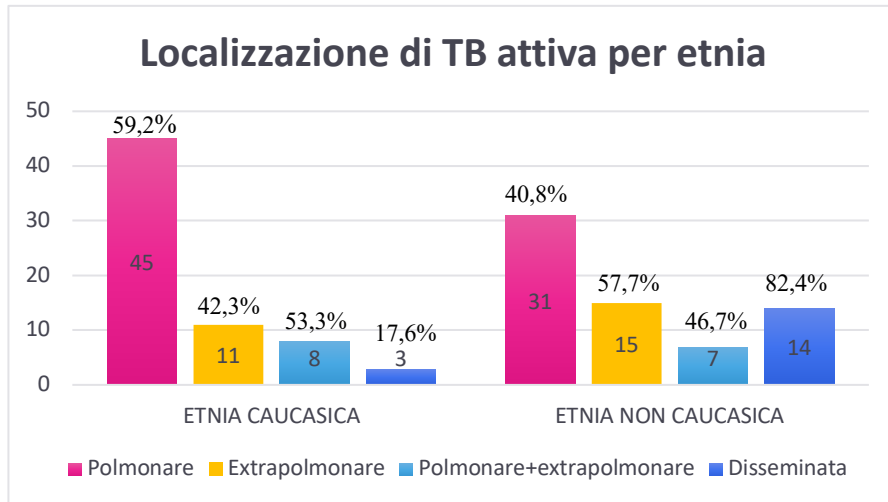


Figura 16- Localizzazione della malattia tubercolare nell'etnia caucasica e non caucasica, valore assoluto e percentuale.

Per quanto riguarda le forme di tubercolosi extrapolmonare (esclusivamente extrapolmonare, polmonare ed extrapolmonare, disseminata), dall'analisi è emerso che la localizzazione di malattia era suddivisa tra i vari organi ed apparati come indicato in figura 17.

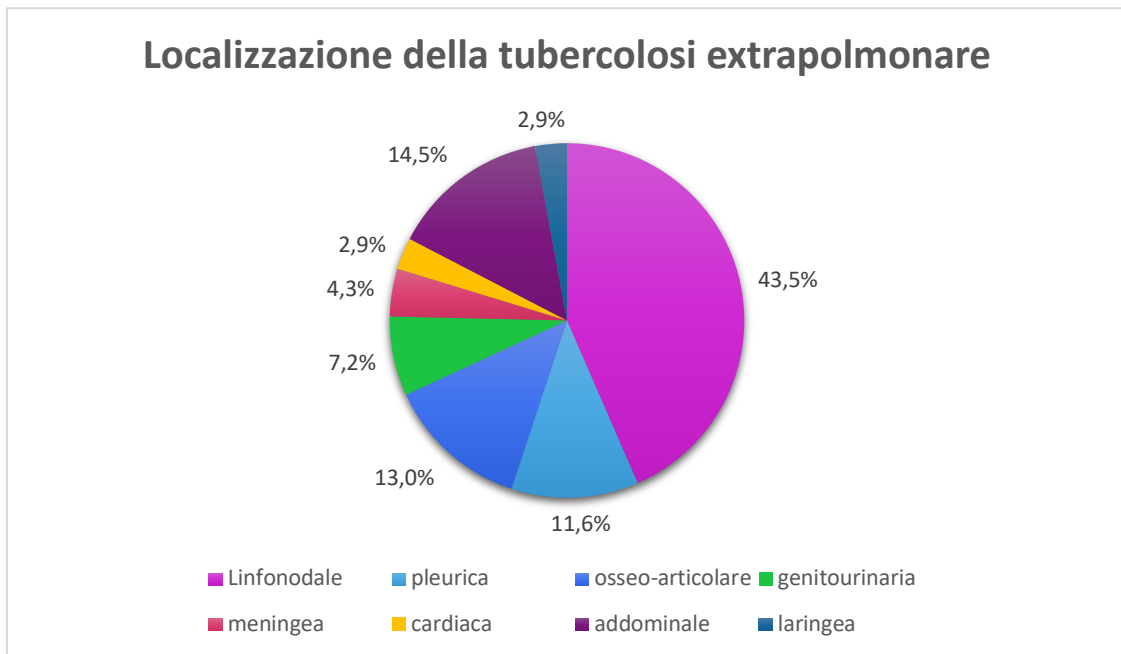


Figura 17- Localizzazione d'organo nei pazienti con TB extrapolmonare ^[3].

^[3] Include pazienti con TB esclusivamente extrapolmonare, pazienti con TB polmonare ed extrapolmonare associate, pazienti con TB disseminata.

L'analisi dell'outcome del trattamento ha evidenziato che il 56,0% dei pazienti (75 pazienti) ha correttamente concluso il follow-up completando la terapia e non presentando segni e sintomi sospetti per residua malattia tubercolare, il 32,1% dei pazienti (43 pazienti) non ha concluso il follow-up, il 6,0% dei pazienti (8 pazienti) è deceduto nel corso del trattamento per cause diverse dalla malattia tubercolare e il 4,5% dei pazienti (6 pazienti) è attualmente in follow-up (figura 18). Non sono disponibili i dati per due pazienti.

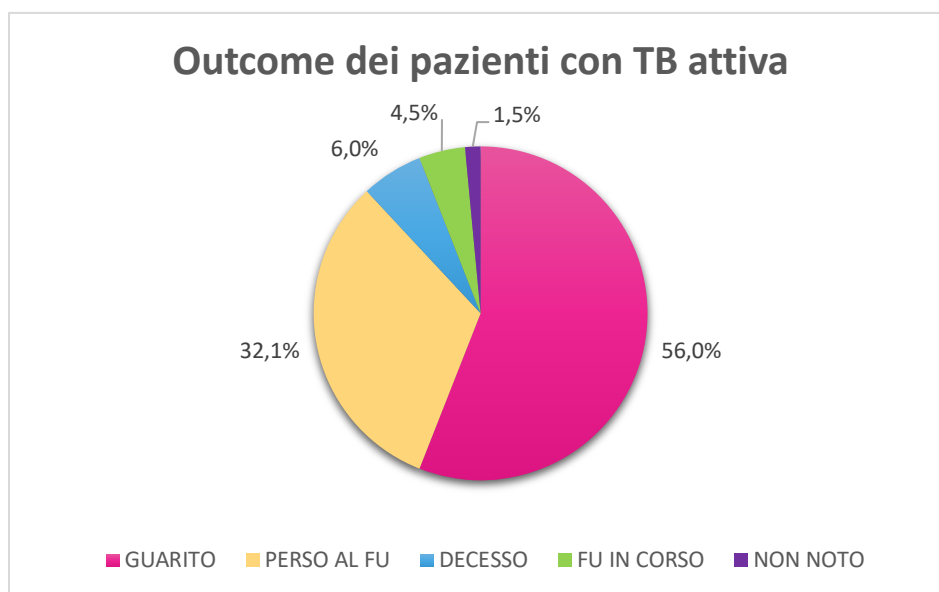


Figura 18- Outcome dei pazienti con TB attiva.

Analizzando l'outcome dei pazienti in relazione all'etnia è stato dimostrato che tra i pazienti guariti il 54,7% (41 pazienti) apparteneva all'etnia non caucasica, mentre l'etnia caucasica costituiva il 53,5% dei pazienti persi al follow-up (23 pazienti) e l'87,5% dei pazienti deceduti (7 pazienti; $p=0,0622$). (figura 19) ($p=0,4465$)

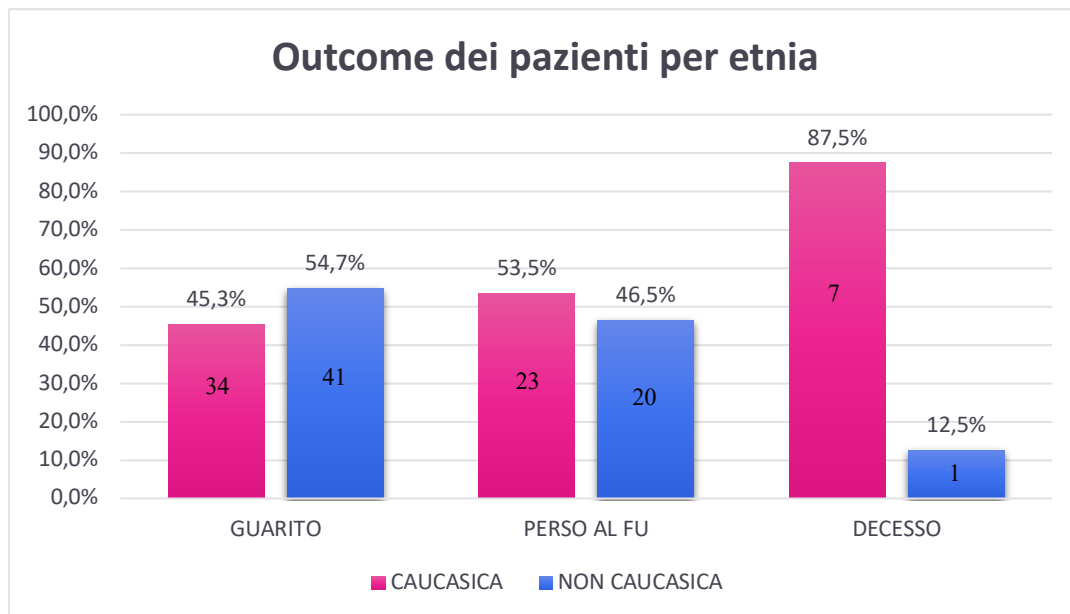


Figura 19- Outcome dei pazienti in relazione all'etnia caucasica e non caucasica.

Considerando poi solo i 43 pazienti persi al follow-up si è scelto di valutare dopo quanto tempo i pazienti avessero smesso di presentarsi ai controlli ambulatoriali di follow-up. In particolare, i pazienti sono stati suddivisi in persi al follow-up alla dimissione dal reparto, persi al follow-up durante la fase di induzione del trattamento (quindi pazienti che erano tornati ad almeno un controllo ambulatoriale post-dimissione) e persi al follow-up durante la fase di mantenimento del trattamento. I risultati di questa analisi sono mostrati in figura 20.

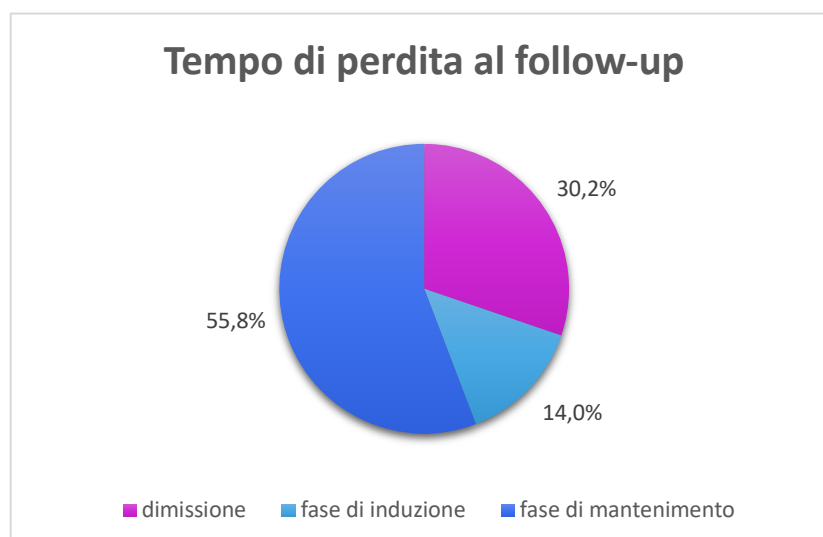


Figura 20- Percentuale di pazienti persi al follow-up nelle diverse fasi di trattamento.

Dalla figura 21 si evince che la maggior parte dei pazienti persi al follow-up alla dimissione e durante la fase di mantenimento appartenevano all'etnia caucasica, mentre la maggior parte di quelli persi durante la fase di induzione apparteneva a quella non

caucasica. Dall'analisi della nazionalità in relazione all'outcome non è stata evidenziata alcuna correlazione tra i due parametri.

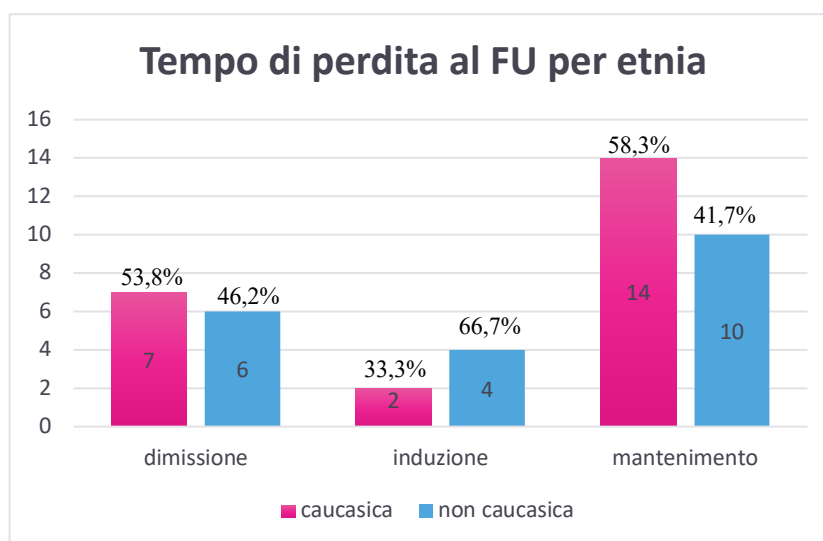


Figura 21- Prevalenza dell'etnia caucasica e non caucasica ai diversi tempi di perdita al FU.

Considerando la terapia antitubercolare assunta è emerso che 113 pazienti con tubercolosi attiva (84,3% del totale) aveva assunto terapia standard a quattro farmaci, mentre 21 pazienti (15,7%) avevano assunto una terapia diversa.

Lo studio della tossicità ai farmaci antitubercolari ha evidenziato che 91 pazienti avevano almeno una determinazione di ALT e, tra questi, solo 35 pazienti avevano almeno un valore superiore al limite superiore della norma (LSN), ossia 40 U/L: 22 pazienti avevano un valore compreso tra 41 e 119 U/L (grado 1 CTCAE), 5 avevano un valore compreso tra 120 e 199 U/L (grado 2 CTCAE), 7 avevano un valore compreso tra 200 e 799 U/L (grado 3 CTCAE), 1 paziente aveva un valore ≥ 800 U/L (grado 4 CTCAE).

In 90 pazienti era stata eseguita almeno una determinazione di AST e, tra questi, 35 avevano almeno un valore superiore al LSN (40 U/L): 24 pazienti avevano un valore compreso tra 41 e 119 U/L (grado 1 CTCAE), 2 pazienti avevano un valore compreso tra 120 e 199 U/L (grado 2 CTCAE), 8 pazienti avevano un valore compreso tra 200 e 799 U/L (grado 3 CTCAE), 1 paziente aveva un valore ≥ 800 U/L (grado 4 CTCAE).

In 91 pazienti era stata eseguita almeno una determinazione della bilirubina e, tra questi, 9 avevano almeno un valore superiore al LSN (1,2 mg/dl): 1 pazienti aveva almeno un valore compreso tra 1,2 e 1,7 mg/dl (grado 1 CTCAE), 4 pazienti avevano almeno un valore compreso tra 1,8 e 3,5 mg/dl (grado 2 CTCAE), 3 pazienti avevano un valore compreso tra 3,6 e 11,9 mg/dl (grado 3 CTCAE), 1 paziente aveva un valore ≥ 12 mg/dl (grado 4 CTCAE).

In 90 pazienti era stata eseguita almeno una determinazione della bilirubina e, tra questi, 30 avevano almeno un valore superiore al LSN (0,95 mg/dl): 24 pazienti avevano almeno un valore compreso tra 0,6 e 1,3 mg/dl (grado 1 CTCAE), 4 pazienti avevano almeno un valore compreso tra 1,4 e 2,8 mg/dl (grado 2 CTCAE), 0 pazienti avevano un valore compreso tra 2,9 e 5,6 mg/dl (grado 3 CTCAE), 2 pazienti avevano un valore $\geq 5,7$ mg/dl (grado 4 CTCAE).

Quanto detto è mostrato in figura 22.

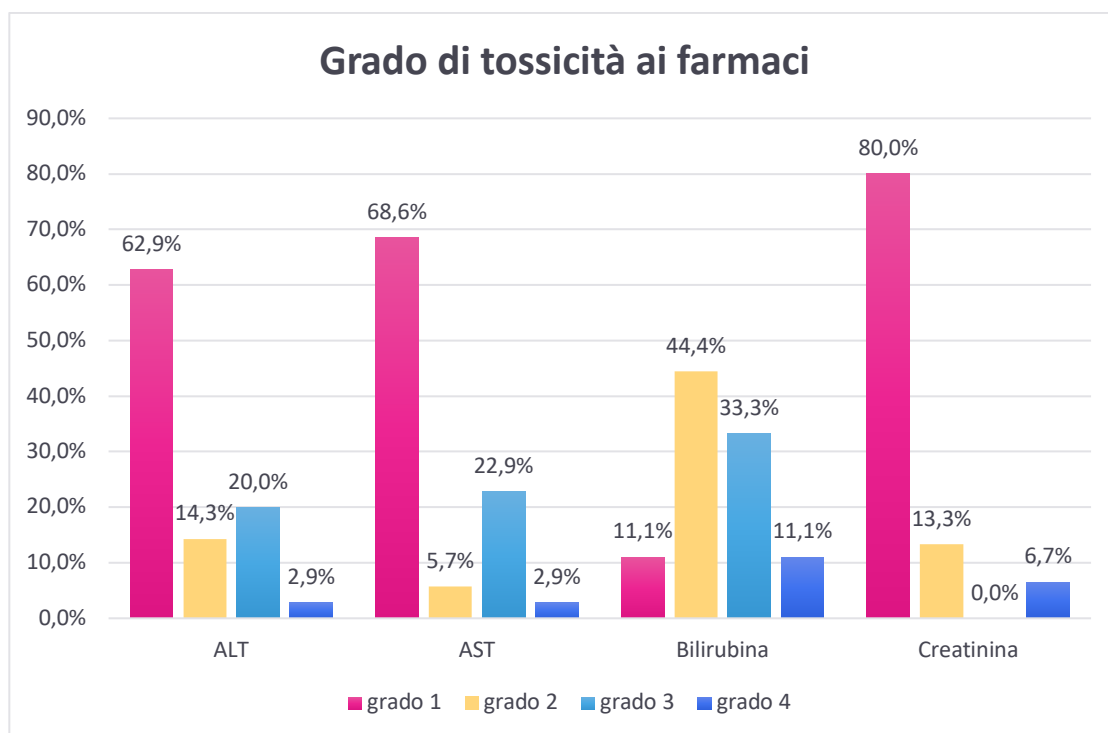


Figura 22- Grado di tossicità ai farmaci antitubercolari in base ai parametri di ALT, AST, bilirubina e creatinina, classificazione CTCAE.

3.1.2 Caratteristiche della diagnosi microbiologica e delle resistenze nei pazienti con tubercolosi esclusivamente polmonare

Dall'analisi della casistica costituita esclusivamente da pazienti affetti da tubercolosi polmonare (76 pazienti) è stato rilevato che:

- Il 69,7% dei pazienti (53 pazienti) aveva eseguito l'esame microscopico diretto esclusivamente su espettorato, il 10,5% (8 pazienti) esclusivamente quello su BAL, il 17,1% (13 pazienti) aveva eseguito entrambi;
- Il 72,4% dei pazienti (55 pazienti) aveva eseguito la ricerca molecolare di BK con metodica PCR sull'espettorato, il 13,3% (10 pazienti) su BAL, il 10,7% (8 pazienti) aveva eseguito entrambi;

- Il 75,0% dei pazienti (57 pazienti) aveva eseguito la ricerca colturale di BK su espettorato, l'7,9% (6 pazienti) su BAL, il 13,1% (10 pazienti) su entrambi; I risultati degli esami microbiologici eseguiti sono riportati in figura 23.

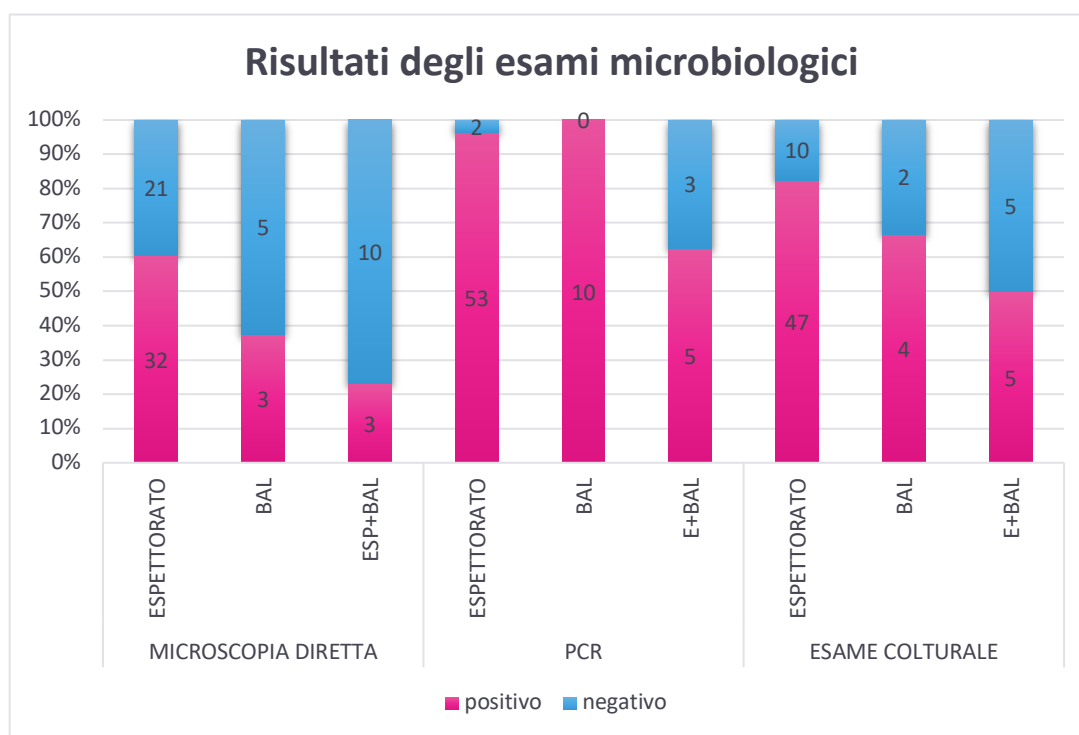


Figura 23- Esito esami microbiologici eseguiti in pazienti con TB esclusivamente polmonare.

Per quanto riguarda l'esecuzione di test di resistenza farmacologica si è valutata l'esecuzione dell'antibiogramma fenotipico e di quello molecolare (tgm), considerando i pazienti aventi almeno un esame colturale positivo su espettorato o BAL (56 pazienti), in particolare:

- Il solo antibiogramma fenotipico è stato eseguito in 1 paziente (1,8% del totale);
- Il tgm è stato eseguito in 55 pazienti (98,2% del totale) e, tra questi, 2 pazienti hanno eseguito anche l'antibiogramma fenotipico;

Inoltre, è stato considerato che la ricerca di BK mediante PCR è stata eseguita in 73 pazienti (96,1% del totale) ed è risultata positiva in 68 pazienti (93,2%) e, tra questi, 18 pazienti sono stati sottoposti solamente alla ricerca della mutazione rpoB, mentre gli altri hanno eseguito almeno uno tra antibiogramma fenotipico o tgm.

Dall'analisi dei risultati di tali test è emerso che, su 56 pazienti sottoposti a un test di resistenza per INH, 4 pazienti (7,1%) presentavano resistenza all'isoniazide (mutazione del gene katG) e, tra questi, un solo paziente presentava resistenza anche ai fluorchinoloni (mutazione del gene gyrA). Considerando invece anche i pazienti sottoposti

esclusivamente alla ricerca della mutazione rpoB su PCR (74 pazienti totali) un solo paziente (1,4%) presentava resistenza alla rifampicina (mutazione del gene rpoB). (figura 24)

In 2 pazienti non è stato possibile eseguire alcun test di resistenza farmacologica per scarsità del materiale inviato o per motivi tecnici del laboratorio di analisi.

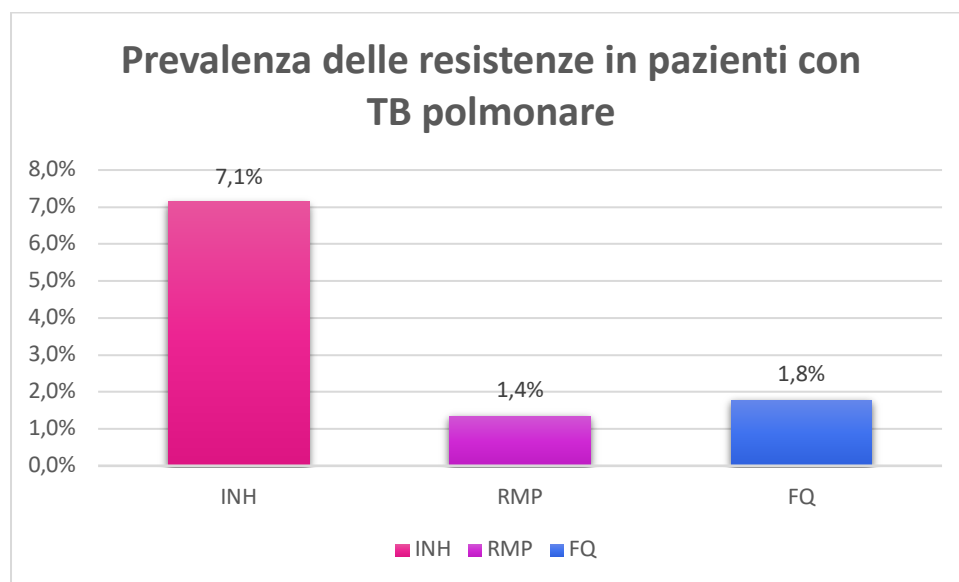


Figura 24- Prevalenza delle resistenze a INH, RMP e FQ tra i pazienti con TB esclusivamente polmonare.

3.2 Confronto dei pazienti con tubercolosi ricoverati e seguiti presso l’Ospedale Policlinico San Martino negli anni 2016-2019 versus anni 2000-2015

Si intende valutare l’evoluzione temporale dei dati epidemiologici dei pazienti ricoverati presso la Clinica di Malattie Infettive dell’Ospedale San Martino negli anni 2016-2019 tramite il confronto con quelli dei pazienti degli anni 2000-2015.

Come si evince dalla figura 25, il numero di ricoveri all’anno per malattia tubercolare ha subito un progressivo incremento dal 2000 al 2011, per poi stabilizzarsi in un intervallo compreso tra i 30 e i 41 ricoveri annui tra il 2012 e il 2019, con una mediana di 33 ricoveri all’anno.

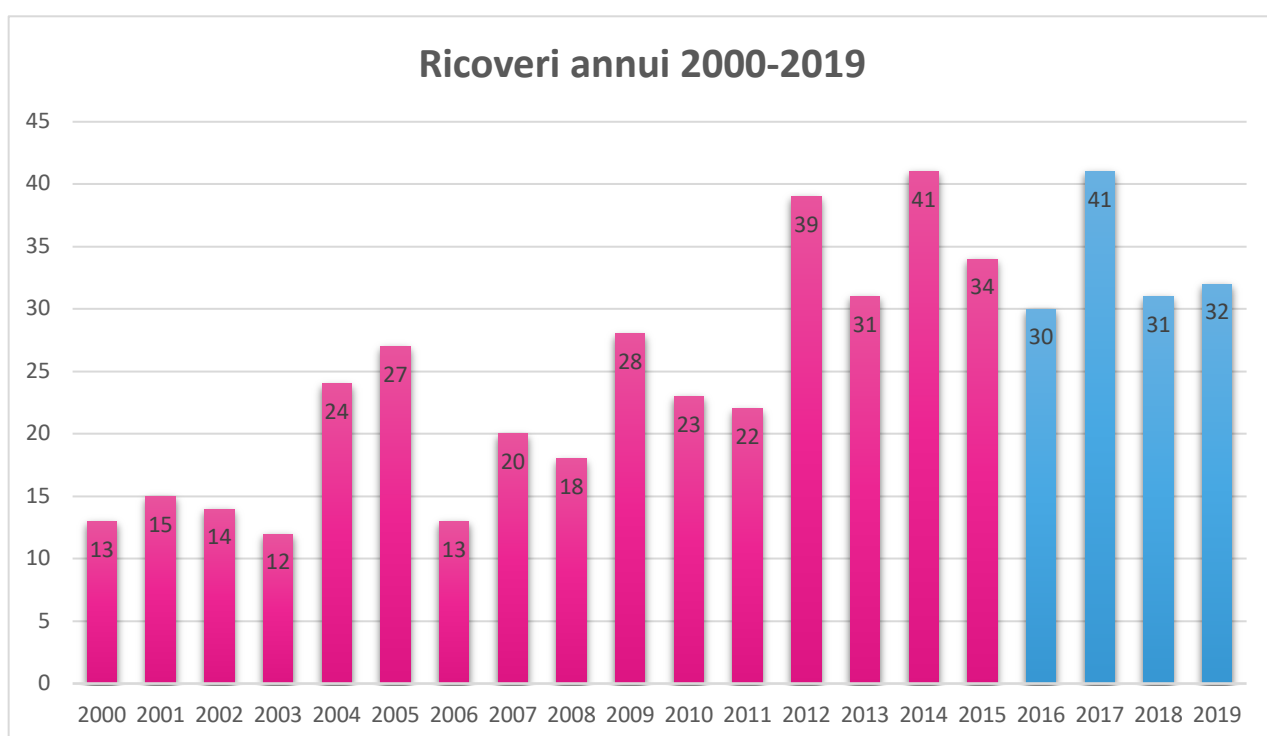


Figura 25- Numero di ricoveri all’anno, anni 2000-2019. rosa: gruppo 2000-2015; azzurro: gruppo 2016-2019.

Al fine di confrontare le caratteristiche delle due coorti studiate si è scelto di definire gruppo 2000-2015 la coorte 2000-2015 e gruppo 2016-2019 la coorte 2016-2019. Il gruppo 2000-2015 era composto da 374 pazienti (73,5% del totale), il gruppo 2016-2019 da 134 pazienti (26,5% del totale).

Le principali caratteristiche dei pazienti dei due gruppi sono riassunte in tabella 7.

CARATTERISTICHE DELLA POPOLAZIONE IN STUDIO	GRUPPO 2000-2015 N=374	GRUPPO 2016-2019 N=134	P value
SESSO MASCHILE, n (%)	240 (64,2%)	94 (70,1%)	0,24
SESSO FEMMINILE, n (%)	134 (35,8%)	40 (29,9%)	
ETA' MEDIANA ALLA DIAGNOSI (range)	45 anni (14-94)	40 anni (17-89)	
ETNIA CAUCASICA, n (%)	246 (65,8%)	67 (50,0%)	0,0018
ETNIA NON CAUCASICA, n (%)	128 (34,2%)	67 (50,0%)	
HIV, n (%)	49 (13,1%)	6 (4,4%)	0,0054
LOCALIZZAZIONE DI MALATTIA TUBERCOLARE			
Tubercolosi attiva, n (%)	374 (97,1%)	134 (100%)	
Polmonare	286 (76,5%)	91 (67,9%)	0,095
- Esclusivamente polmonare	265 (92,7%)	76 (83,5%)	
- Polmonare ed extrapolmonare	21 (7,3%)	15 (16,5%)	
Esclusivamente extrapolmonare	81 (21,7%)	26 (19,4%)	
Malattia disseminata	7 (1,9%)	17 (12,7%)	
Coinvolgimento extrapolmonare	109 (29,1%)	58 (43,3%)	0,0019
ESAME COLTURALE POSITIVO	211 (56,7%)	89 (67,4%)	0,70
PAZIENTI RESISTENTI AD ALMENO UN FARMACO	40/198 (20,2%)	12/114 (10,5%)	0,0279

Tabella 7- Caratteristiche della popolazione in studio in base alla suddivisione gruppo 2000-2015 e gruppo 2016-2019.

Per quanto riguarda l'etnia, distinta in tabella 7 in caucasica e non caucasica, si è scelto di considerare tra i pazienti di etnia non caucasica anche la diversa prevalenza delle etnie afrocaribica, latinoamericana ed asiatica (figura 26).

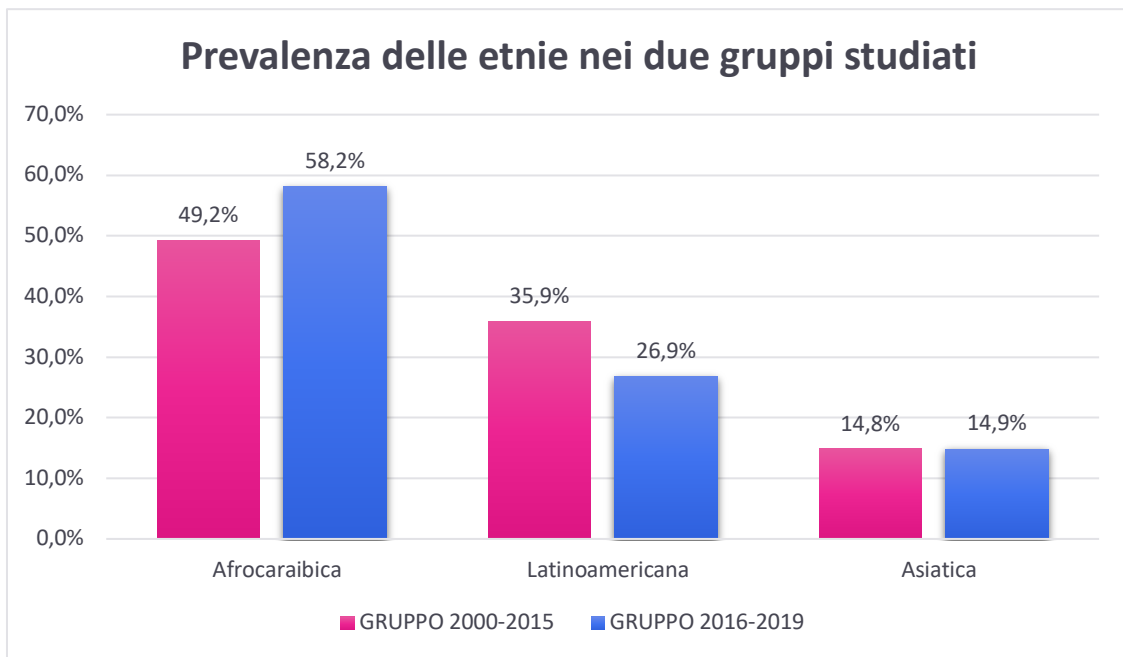


Figura 26- Percentuali di pazienti appartenenti alle etnie non caucasiche nel gruppo 2000-2015 e nel gruppo 2016-2019.

È stato così possibile osservare un incremento percentuale dei pazienti di etnia non caucasica che nel gruppo 2016-2019 rappresentavano la metà del campione, mentre nel gruppo 2000-2015 rappresentavano poco più di un terzo. L'aumento di pazienti di etnia non caucasica è stato determinato da un incremento prevalente dei pazienti di etnia afrocaribica che, dal 2010 in poi, è sempre stata tra le etnie non caucasiche quella più rappresentata, probabilmente a causa dell'incremento del flusso migratorio dall'Africa verso l'Europa.

Come dato confortante è stata osservata una diminuzione della prevalenza dei pazienti con infezione da HIV, che nel gruppo 2016-2019 sono circa un terzo di quelli presenti nel gruppo 2000-2015.

Per quanto concerne lo studio delle resistenze ai farmaci antitubercolari si sono considerati esclusivamente i pazienti con esame colturale positivo e, tra questi, quelli in cui almeno un DST (antibiogramma fenotipico, tgm) era stato eseguito. Per la valutazione della sola resistenza alla rifampicina sono stati inoltre inclusi anche i pazienti che avevano eseguito esclusivamente la ricerca di rpoB su PCR.

L'esame colturale è risultato positivo in 211 pazienti del gruppo 2000-2015 (56,7% del totale) e, tra questi, 182 pazienti (85,8%) avevano eseguito almeno uno tra antibiogramma fenotipico e tgm. Sono stati inoltre considerati anche 16 pazienti che avevano eseguito la

sola ricerca della mutazione rpoB su PCR, perciò il numero complessivo dei pazienti con DST eseguito nel gruppo 2000-2015 è di 198.

Nel gruppo 2016-2019 l'esame colturale è stato eseguito in 132 pazienti (98,5% del totale) ed è risultato positivo in 89 (67,4%); tra questi, 83 pazienti (93,3%) avevano eseguito almeno uno tra antibiogramma fenotipico e tgm. Sono stati inoltre considerati anche 31 pazienti che avevano eseguito la sola ricerca della mutazione rpoB su PCR, perciò il numero complessivo dei pazienti con DST eseguito nel gruppo 2016-2019 è di 114.

Le figure 27 e 28 mostrano la prevalenza della resistenza farmacologica nei due gruppi.

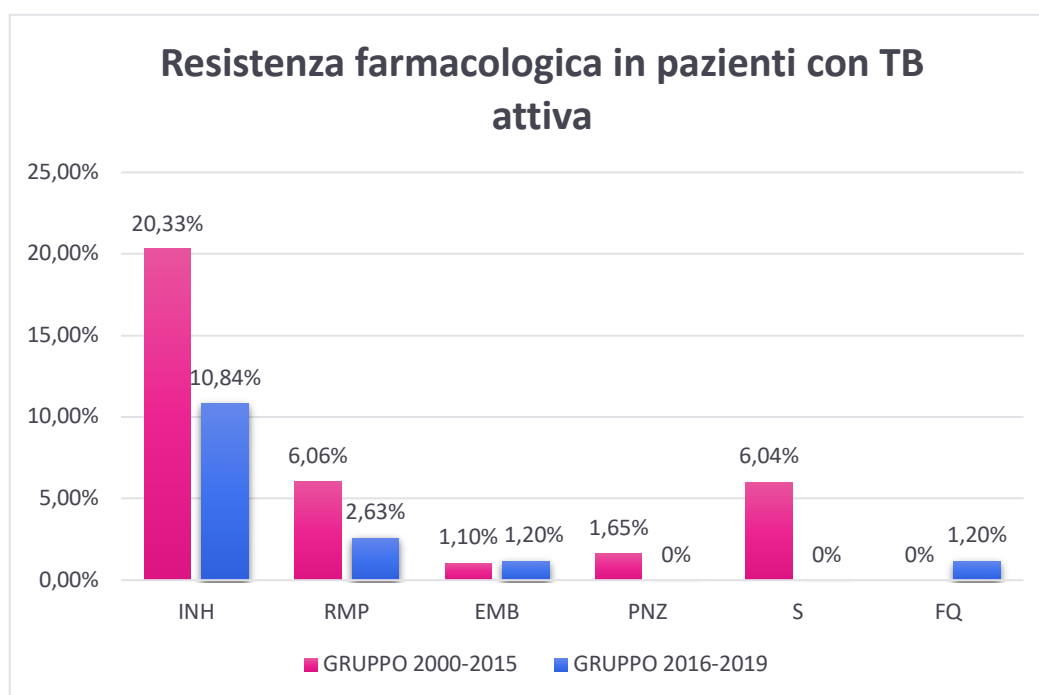


Figura 27- Prevalenza della resistenza ai farmaci antitubercolari nel gruppo 2000-2015 e nel gruppo 2016-2019.

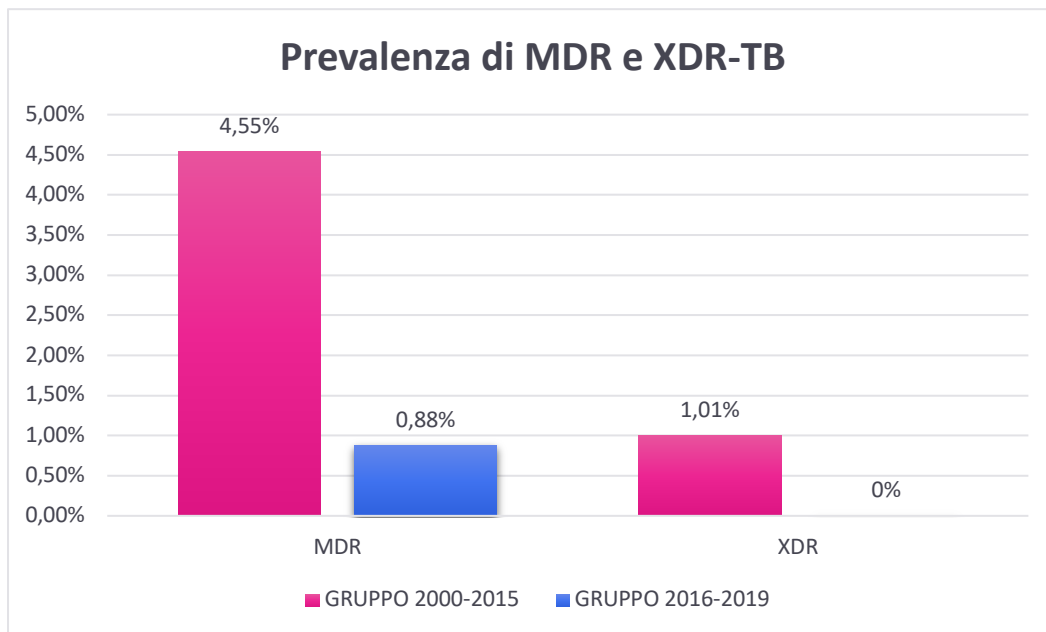


Figura 28- Prevalenza di MDR e XDR-TB nei due gruppi.

La figura 27 evidenzia come, nonostante nel gruppo 2016-2019 ci sia complessivamente una diminuzione della prevalenza delle forme di TB farmaco-resistenti rispetto al gruppo 2000-2015, sia al contempo emersa la resistenza ai fluorchinoloni, che nel gruppo 2016-2019 non era stata rilevata.

Per l'analisi dell'andamento temporale della farmaco-resistenza i pazienti sono stati suddivisi in 4 categorie annue: categoria 1 (casi dal 2000 al 2004), categoria 2 (casi dal 2005 al 2009), categoria 3 (casi dal 2010 al 2015), categoria 4 (casi dal 2016 al 2019). Sono stati inclusi nelle categorie solo i pazienti che avevano eseguito almeno un DST, quindi il numero di pazienti inclusi nelle singole categorie era di 29 pazienti nella categoria 1 (9,3% del totale), 46 pazienti nella categoria 2 (14,7%), 123 pazienti nella categoria 3 (39,4%) e 114 pazienti nella categoria 4 (36,5%).

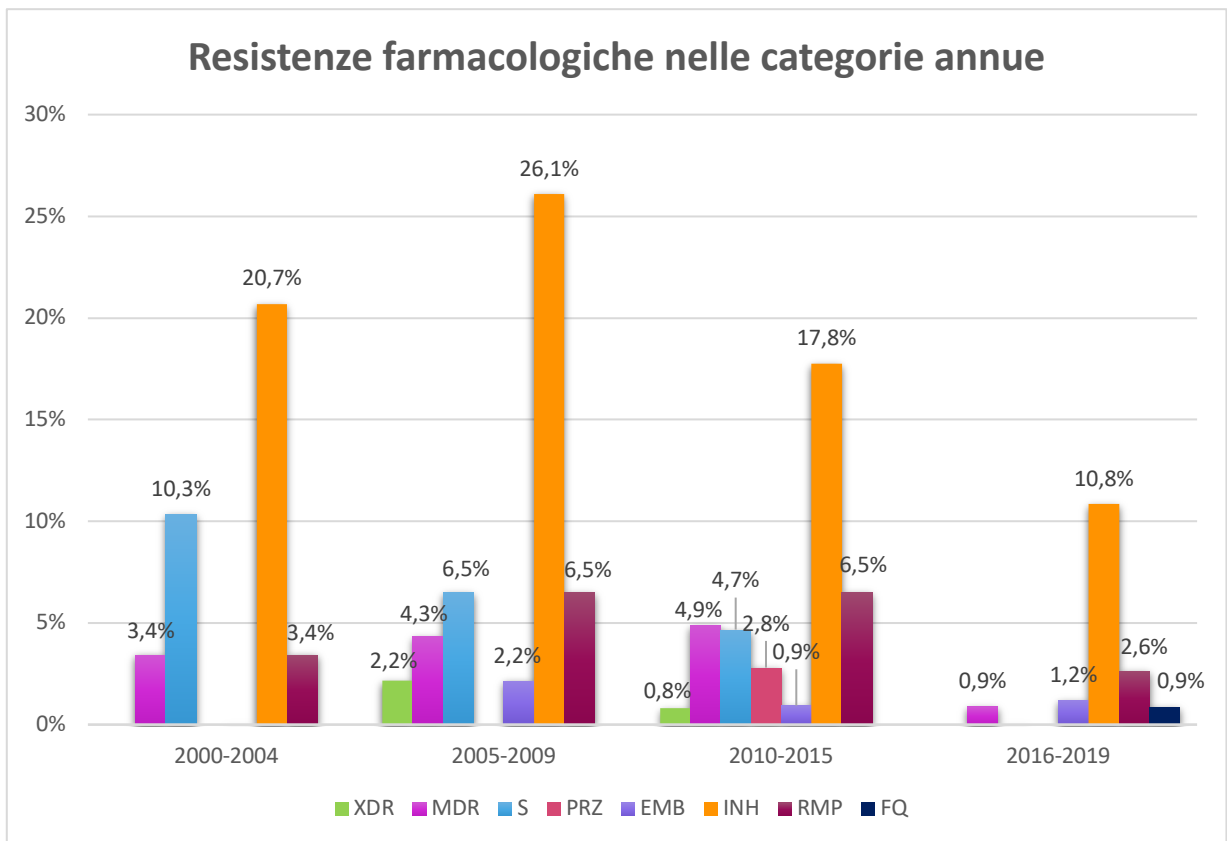


Figura 29- Andamento delle resistenze farmacologiche nelle quattro categorie annue.

RMP=rifampicina, INH=isoniazide, EMB=etambutolo, PRZ=pirazinamide, S=streptomicina, FQ=fluorochinoloni.

Come si evince dalla figura 29 negli ultimi quattro anni si è assistito a una riduzione delle forme di *Mtb* farmaco-resistente ad INH, RMP, EMB, PRZ, S e a una riduzione delle forme di MDR e XDR-TB. Tuttavia, negli ultimi quattro anni è emersa la resistenza ai fluorochinoloni, che non era presente nei pazienti ricoverati dal 2000 al 2015.

Per concludere, dall'analisi delle resistenze ai singoli farmaci antitubercolari e della prevalenza di pazienti con MDR e XDR-TB è risultato evidente come ci sia in entrambi i gruppi una netta prevalenza dell'INH-resistenza rispetto a quella agli altri farmaci antitubercolari, nonostante i dati dimostrino una sostanziale riduzione della prevalenza dell'INH-resistenza nel 2016-2019 rispetto al 2000-2015.

Perciò si è scelto di andare a confrontare le caratteristiche principali dei pazienti con INH-resistenza nei due gruppi.

Nel gruppo 2000-2015 solo in 182 pazienti (86,3%) era stato eseguito almeno un test che valutasse la resistenza all'isoniazide, tra questi: 145 pazienti (79,7%) erano sensibili al farmaco, mentre 37 (20,3%) erano resistenti.

Nel gruppo 2016-2019 solo in 83 pazienti (61,9%) era stato eseguito almeno un test che valutasse la resistenza all'isoniazide, tra questi: 74 pazienti (89,2%) erano sensibili al farmaco, mentre 9 (10,8%) erano resistenti.

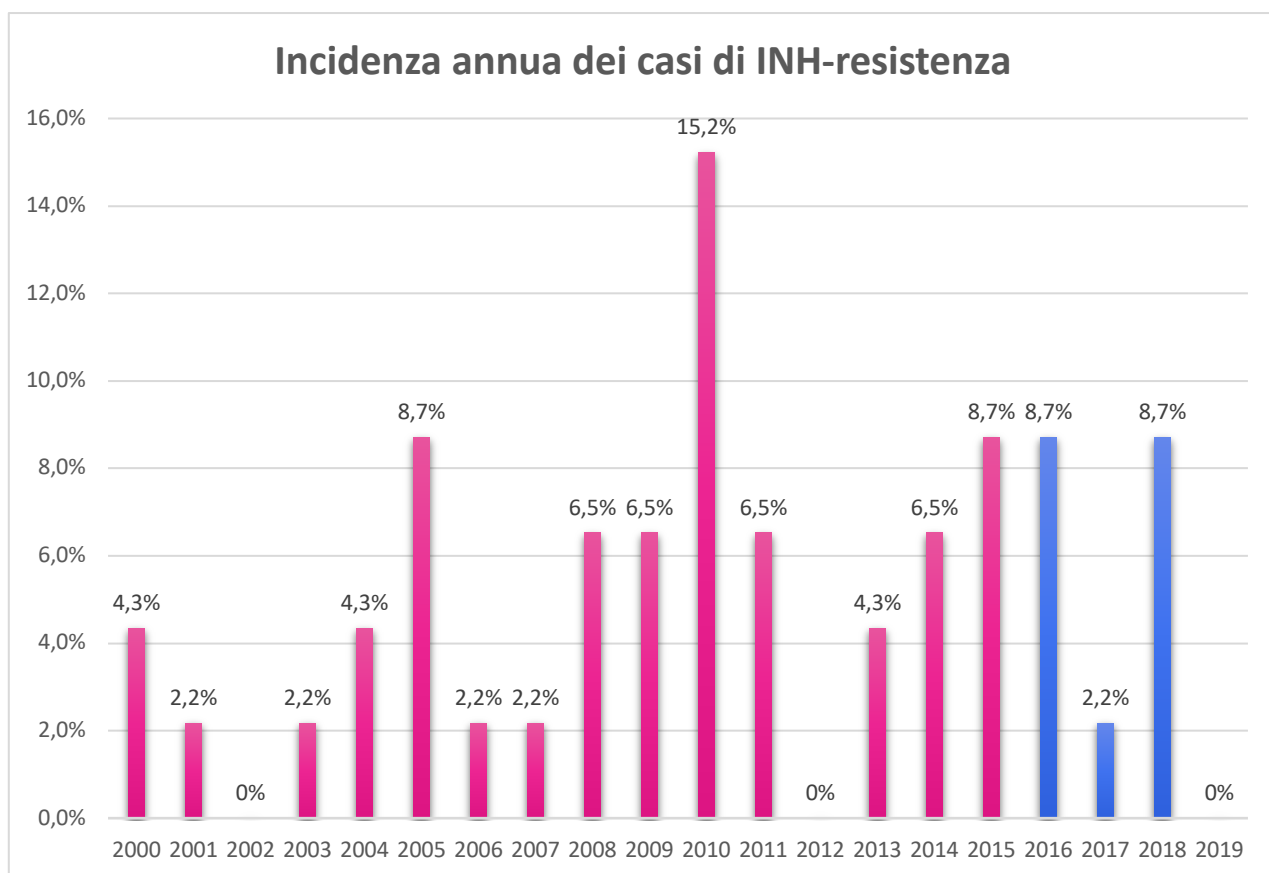


Figura 30- Incidenza annua dei casi di INH-resistenza dal 2000 al 2019; rosa: gruppo 2000-2015, blu: gruppo 2016-2019.

Considerando complessivamente i pazienti di entrambi i gruppi con INH-resistenza (46 pazienti) si evidenzia come gli anni in cui si è registrata una maggiore incidenza di casi siano il 2005, il 2016 e il 2018 (4 casi/anno), il 2010 (7 casi) e il 2015 (5 casi).

Complessivamente, tra i pazienti INH-resistenti c'è prevalenza del sesso maschile (27 pazienti: 58,7% del totale), mentre quello femminile costituisce solo il 41,3% del campione (19 pazienti). Tuttavia, si è osservato un diverso rapporto tra i due sessi nel gruppo 2000-2015 rispetto al gruppo 2016-2019, come indicato in figura 31.

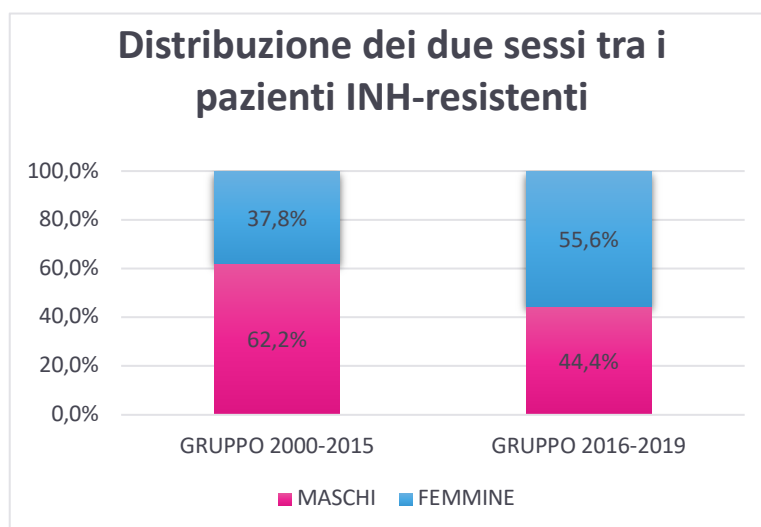


Figura 31- Prevalenza dei due sessi tra i pazienti INH-resistenti dei due gruppi.

Dall'analisi dell'etnia dei pazienti INH-resistenti è stato possibile osservare che complessivamente nel gruppo 2000-2015 l'etnia non caucasica era prevalente (57,6%), mentre nel gruppo 2016-2019 lo era quella caucasica (55,6%). La suddivisione dei pazienti INH-resistenti per etnia è riportata in figura 32 per il gruppo 2000-2015 e 33 per il gruppo 2016-2019.

Considerando invece i pazienti INH-sensibili dallo studio è emerso che in entrambi i gruppi era prevalente l'etnia caucasica (rispettivamente 65,5% e 54,1% del totale).

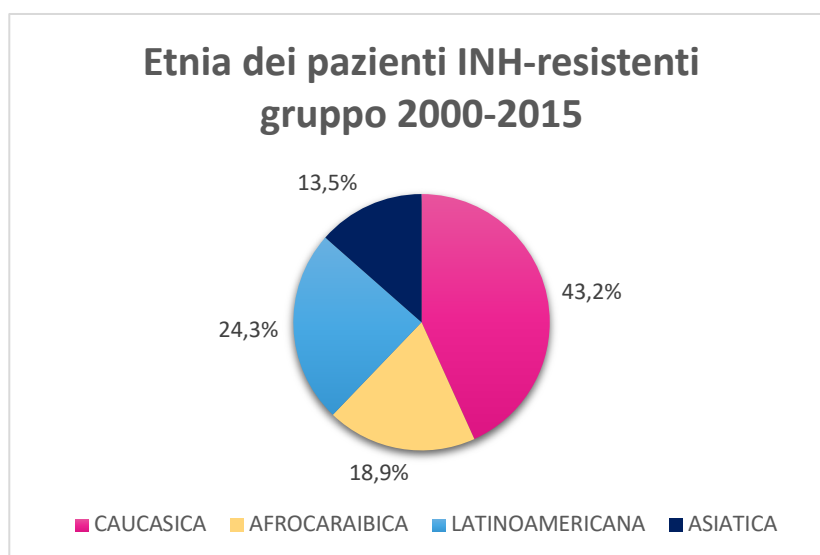


Figura 32- Prevalenza delle diverse etnie tra i pazienti INH-resistenti del gruppo 2000-2015

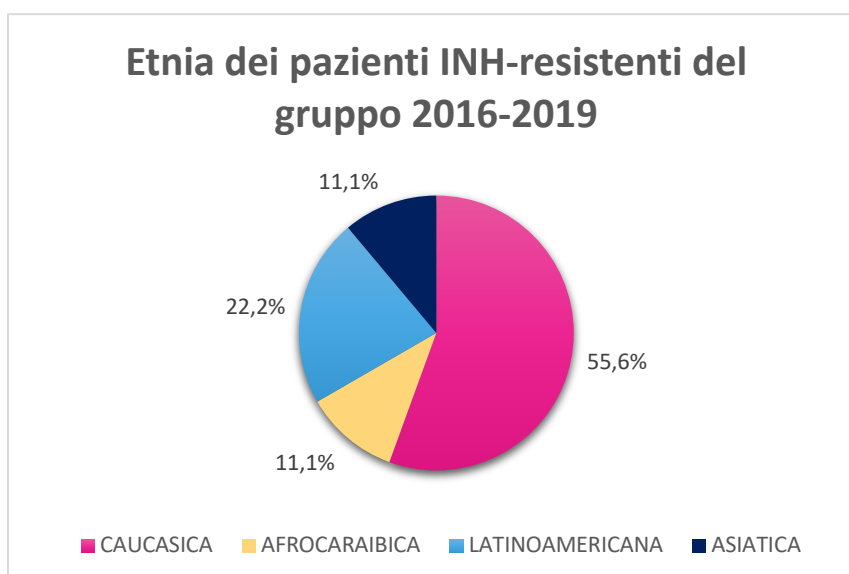


Figura 33- Prevalenza delle diverse etnie tra i pazienti INH-resistenti del gruppo 2000-2015.

La coinfezione da HIV è stata rilevata in 16 pazienti (11,0%) con INH-sensibilità e in 6 pazienti con INH-resistenza (16,2%) nel gruppo 2000-2015; tra gli 83 pazienti testati per INH-sensibilità o resistenza nel gruppo 2016-2019, solo 61 pazienti (73,5%) hanno eseguito il test per la ricerca di HIV-RNA e in particolare:

- In 55 pazienti su 74 (66,3%) con INH-sensibilità è stato eseguito il test e, tra questi, 5 (9,1%) sono risultati positivi;
- In 6 pazienti su 9 (66,7%) con INH-resistenza è stato eseguito il test e, tra questi, un solo paziente (16,7%) è risultato positivo;

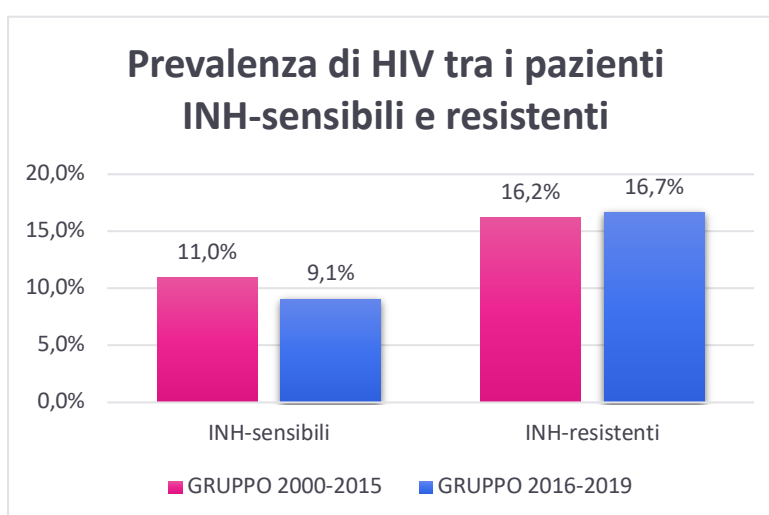


Figura 34- Prevalenza della coinfezione da HIV tra i pazienti INH-sensibili e resistenti nei due gruppi.

Considerando il tipo di paziente lo studio ha dimostrato che tra i pazienti INH-resistenti nel gruppo 2000-2015 7 pazienti (18,9%) appartenevano alla categoria re-treated case e

30 (81,1%) appartenevano alla categoria new case, mentre nel gruppo 2016-2019 nessun paziente apparteneva alla categoria re-treated case.

Lo studio della localizzazione di malattia tubercolare nei pazienti con INH-sensibilità e resistenza ha dimostrato che nei pazienti INH-sensibili di entrambi i gruppi la localizzazione esclusivamente polmonare era prevalente rispetto alle altre (rispettivamente 80,8% e 68,9%), mentre nei pazienti INH-resistenti la localizzazione esclusivamente polmonare era prevalente tra i pazienti del gruppo 2000-2015 (81,6%) ma non tra i pazienti di gruppo 2016-2019 dove le forme extrapolmonare, polmonare ed extrapolmonare associata e disseminata avevano una prevalenza complessivamente maggiore rispetto alla forma esclusivamente polmonare (figura 35).

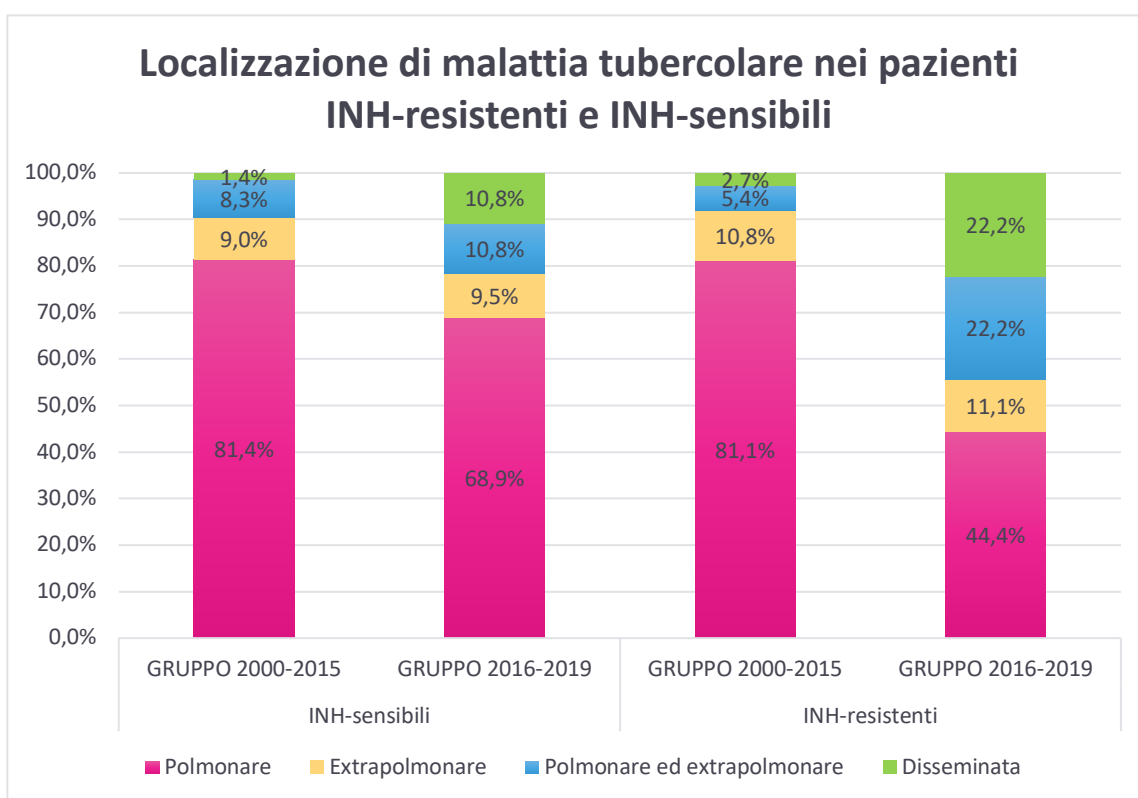


Figura 35- Localizzazione di malattia tubercolare nei pazienti INH-sensibili e INH-resistenti dei due gruppi.

Non è stato possibile eseguire un confronto tra i pazienti del gruppo 2000-2015 e quelli del gruppo 2016-2019 per quanto riguarda l'outcome. Tuttavia, dall'analisi dei dati del solo gruppo 2016-2019, è risultato che su 9 pazienti INH-resistenti 5 (55,5%) avevano correttamente completato il follow-up, 4 (44,4%) erano stati persi al follow-up e di 1 (1,1%) non è stato possibile valutare l'esito.

Considerando i pazienti con MDR-TB è emerso che nel gruppo 2000-2015 erano presenti 9 casi di MDR-TB, mentre nel gruppo 2016-2019 era presente un solo caso, registrato nell'anno 2016. Si può quindi affermare che ci sia stato un decremento significativo dei casi di MDR-TB dal 2016 al 2019.

Le caratteristiche principali del paziente con MDR-TB del gruppo 2016-2019 sono riassunte e confrontate con quelle dei pazienti con MDR-TB del gruppo 2000-2015 in tabella 8.

Dal confronto si evince che il paziente di gruppo 2016-2019 si discosta dalle principali caratteristiche dei pazienti MDR di gruppo 2000-2015 solo per l'età mediana, che nei pazienti di gruppo 2000-2015 era inferiore di 14 anni, e per la localizzazione di malattia, che nei pazienti di gruppo 2000-2015 era nella maggior parte dei casi a livello polmonare e solo nel 22,2% dei casi a livello extrapolmonare.

	PAZIENTE MDR GRUPPO 2016-2019	PAZIENTI MDR GRUPPO 2000-2015
NUMERO PAZIENTI	1	9
ANNO	2016	2000-2015
SESSO	M	M (88,9%)
ETA' MEDIANA	51	37 anni (24-65)
ETNIA	CAUCASICA	CAUCASICA (66,7%)
HIV	NEG.	NEG. (77,8%)
FR ANAMN.	NEG.	NEG. (33,3%)
NEW/RE-TREATED CASE	NEW CASE	NEW CASE (77,8%)
SEDE TB	EXTRAPOLM	EXTRAPOLM. (22,2%)
COLTURALE ANY SITE	POS	POS (77,8%)

Tabella 8- Caratteristiche principali del paziente con MDR-TB del gruppo 2016-2019 a confronto con quelle dei pazienti MDR del gruppo 2000-2015.

3.3 Caratteristiche dei pazienti con tubercolosi documentata microbiologicamente ricoverati e seguiti negli anni 2016-2019 presso gli altri ospedali liguri

Per la valutazione della resistenza farmacologica si è scelto di estendere lo studio anche a pazienti ricoverati negli anni 2016-2019 presso altri ospedali della Regione Liguria ed altri reparti dell'Ospedale San Martino di Genova. Lo scopo dello studio era infatti valutare se la casistica dei pazienti con TB ricoverati e trattati presso l'Ospedale Policlinico San Martino fosse paragonabile a quella dei pazienti ricoverati sul territorio ligure per i quali fossero state inviate indagini microbiologiche al laboratorio dell'Ospedale San Martino.

Per questa ragione la casistica dello studio comprende 309 pazienti, suddivisi ai fini dello studio in gruppo San Martino e gruppo altri ospedali liguri: il gruppo San Martino include i 134 pazienti ricoverati presso la Clinica di Malattie Infettive dell'Ospedale San Martino di Genova, a cui sono stati aggiunti 14 pazienti ricoverati presso altri reparti dell'Ospedale San Martino, per un totale di 148 pazienti; il gruppo altri ospedali liguri include 160 pazienti ricoverati presso altri ospedali genovesi o liguri.

Le caratteristiche generali dei pazienti dei due gruppi sono riassunte in tabella 9.

CARATTERISTICHE GENERALI DELLA POPOLAZIONE	Pazienti Ospedale San Martino N=148	Pazienti di altri ospedali liguri N=160	P value
SESSO MASCHILE, n (%)	101 (68,2%)	108 (67,5%)	0,9034
SESSO FEMMINILE, n (%)	47 (31,8%)	52 (32,5%)	
ETA' MEDIANA ALLA DIAGNOSI (range)	41 anni (17-89)	48 (2-100)	
ETNIA CAUCASICA, n (%)	78 (52,7%)	75 (46,9%)	0,3616
ETNIA NON CAUCASICA, n (%)	70 (47,3%)	85 (53,1%)	

Tabella 9- Caratteristiche generali dei pazienti del gruppo San Martino e del gruppo altri ospedali liguri.

Dall'analisi della casistica dei pazienti del gruppo San Martino è emerso che sono stati eseguiti i seguenti esami:

- 143 pazienti (96,6% del totale) avevano eseguito almeno un esame colturale any site;
- 143 pazienti (96,6% del totale) avevano eseguito almeno una ricerca di BK mediante PCR any site;

L'esame colturale è risultato positivo in 97 pazienti (67,8% del totale) e, tra questi, sono stati eseguiti i seguenti DST:

- 1 paziente (1,0%) ha eseguito esclusivamente l'antibiogramma fenotipico;
- 90 pazienti (92,8%) hanno eseguito il tgm e, tra questi, 6 pazienti hanno eseguito anche l'antibiogramma fenotipico;
- 6 pazienti (6,2%) non hanno eseguito nessun esame;

La ricerca di BK mediante PCR è risultata positiva in 121 pazienti (84,6%) e, tra questi, 34 (28,1%) hanno eseguito esclusivamente la ricerca della mutazione rpoB, mentre 81 (66,9%) hanno eseguito anche uno tra antibiogramma fenotipico o tgm e 6 pazienti (5,0%) non hanno eseguito alcun esame.

Dall'analisi della casistica dei pazienti del gruppo altri ospedali liguri è emerso che sono stati eseguiti i seguenti esami:

- 158 pazienti (98,8% del totale) avevano eseguito almeno un esame colturale any site;
- 17 pazienti (10,6% del totale) avevano eseguito almeno una ricerca di BK mediante PCR any site;
- 1 paziente (0,6%) non aveva eseguito alcun esame;

L'esame colturale è risultato positivo in 156 pazienti (98,7% del totale) e, tra questi, sono stati eseguiti i seguenti DST:

- 1 paziente (0,6%) ha eseguito esclusivamente l'antibiogramma fenotipico;
- 155 pazienti (99,4%) hanno eseguito il tgm e, tra questi, 15 pazienti hanno eseguito anche l'antibiogramma fenotipico;

La ricerca di BK mediante PCR è risultata positiva in 15 pazienti (88,2%) e, tra questi, 3 (20%) hanno eseguito esclusivamente la ricerca della mutazione rpoB, mentre 12 (80,0%) hanno eseguito anche uno tra antibiogramma fenotipico e tgm.

La tabella 10 riassume quanto detto nei due paragrafi precedenti.

ESAMI, n (%)	Pazienti Ospedale San Martino	Pazienti di altri ospedali liguri
DST DISPONIBILE	91 (93,8%)	156 (100%)
PCR DISPONIBILE	143 (96,6%)	17 (10,6%)
PCR POS	121 (84,6%)	15 (88,2%)
Solo rpoB su PCR	34 (28,1%)	3 (20,0%)

Tabella 10- Test microbiologici e DST eseguiti nei due gruppi.

Considerando quindi nel gruppo San Martino e nel gruppo altri ospedali liguri solo i pazienti su cui è stato eseguito almeno un test di resistenza (rispettivamente 125 nel primo e 159 nel secondo) lo studio ha evidenziato che nel gruppo San Martino erano inclusi 12 pazienti (9,6%) che presentavano resistenza ad almeno uno dei farmaci antitubercolari, nel gruppo altri ospedali liguri erano inclusi 11 pazienti (6,9%) che presentavano resistenza ad almeno uno dei farmaci antitubercolari (p=0,5120).

Dall'analisi delle resistenze ai farmaci antitubercolari è risultato che in entrambi i gruppi l'INH-resistenza era prevalente su quella agli altri farmaci antitubercolari e che nel gruppo San Martino la seconda resistenza più frequente era quella alla rifampicina, mentre nel gruppo altri ospedali liguri quella ai fluorochinoloni (figura 36).

In nessuno dei due gruppi sono state rilevate resistenti nei confronti di pirazinamide, streptomina o aminoglicosidi.

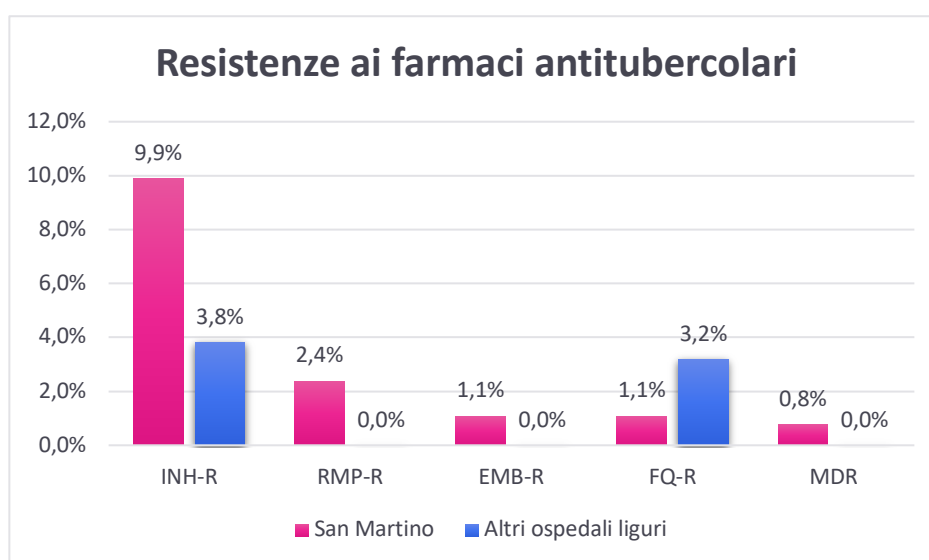


Figura 36- Prevalenza delle resistenze farmacologiche nei due gruppi.

Si è quindi scelto di andare a svolgere un confronto tra i pazienti che presentavano isoniazide sensibilità e resistenza nei due gruppi.

È risultato che solo su 91 pazienti del gruppo San Martino (93,8% di quelli con esame colturale positivo) e su 156 pazienti del gruppo altri ospedali liguri (100% di quelli con esame colturale positivo) era stato eseguito un DST che valutasse la presenza di sensibilità o resistenza all'isoniazide.

Considerando nei due gruppi la distribuzione annua dei pazienti con INH-resistenza si è evidenziato come le frequenze più significative di INH-resistenza si siano verificate negli

anni 2016 (44,4%) e 2018 (44,4%) per i pazienti del gruppo San Martino, nell'anno 2019 (60,0%) per i pazienti del gruppo altri ospedali liguri. (figura 37)

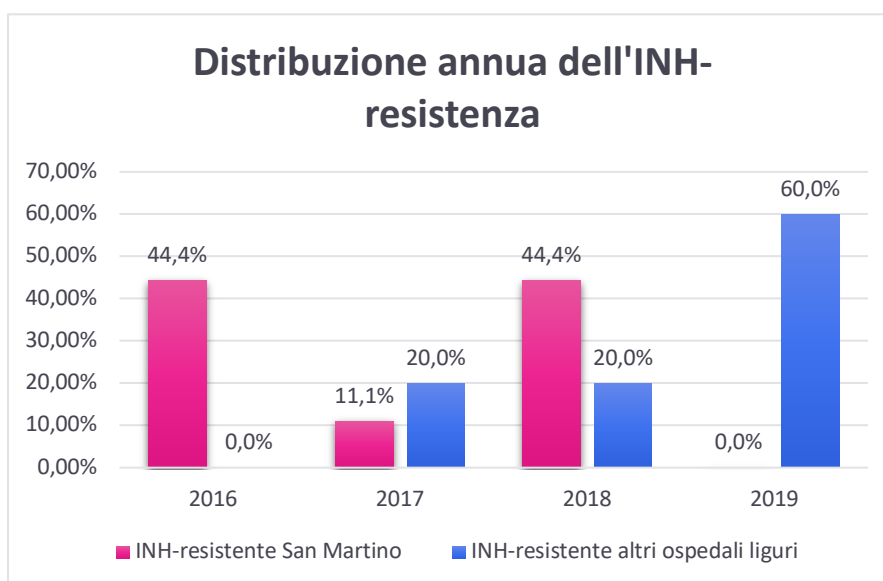


Figura 37- Distribuzione percentuale dei pazienti INH-resistenti dei due gruppi dal 2016 al 2019.

L'analisi dell'andamento temporale dell'INH-resistenza ha mostrato, tra i pazienti ricoverati all'Ospedale San Martino, una riduzione percentuale dei casi in rapporto al totale dei pazienti testati per ogni anno. Considerando invece i pazienti ricoverati negli altri ospedali liguri, l'andamento temporale è risultato più stabile (Figura 38).

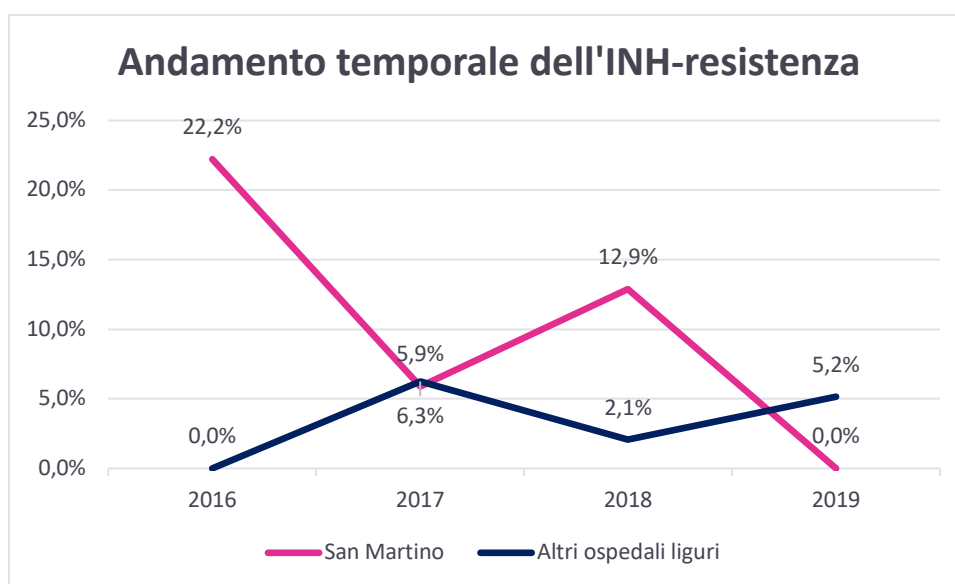


Figura 38- Andamento temporale dell'INH-resistenza nei due gruppi.

Considerando poi la distribuzione tra i due sessi è emerso che tra i 91 pazienti in studio nel gruppo San Martino 61 (67,0%) appartenevano al sesso maschile, 30 (33,0%) al sesso

femminile. Tra i 156 pazienti del gruppo altri ospedali liguri, 106 (67,9%) appartenevano al sesso maschile, 50 (32,1%) al sesso femminile.

In particolare, considerando l'INH-sensibilità e l'INH-resistenza nei due gruppi i pazienti erano così suddivisi:

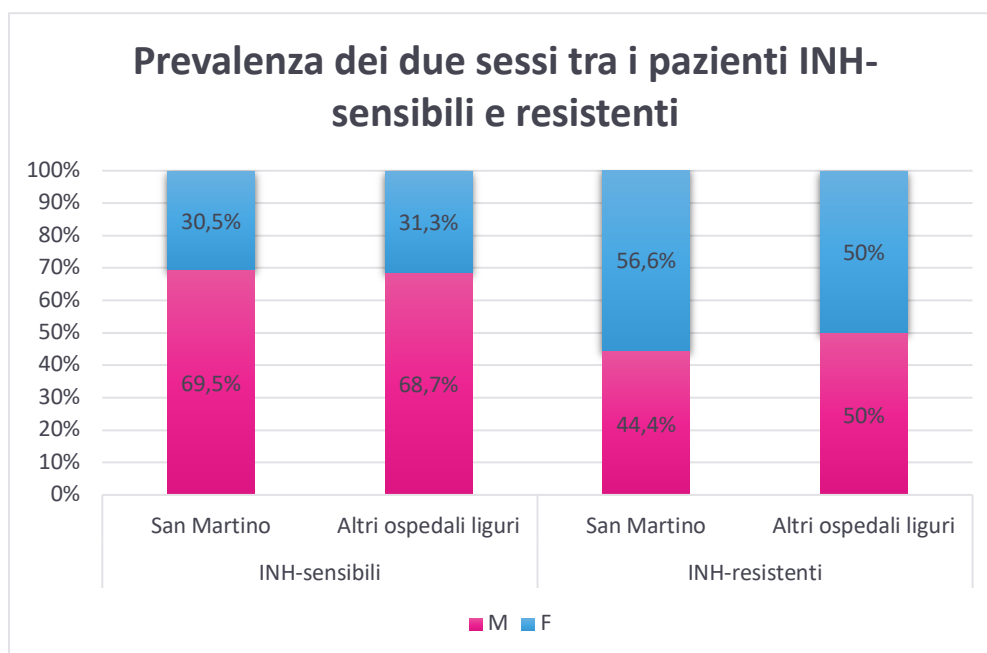


Figura 39- Distribuzione dei due sessi nei pazienti INH-sensibili e resistenti dei due gruppi.

È quindi evidente come in entrambi i gruppi ci sia complessivamente un rapporto M:F di circa 2:1, che viene rispettato in entrambi i gruppi all'interno dei pazienti INH-sensibili, mentre tra i pazienti INH-resistenti si osserva una prevalenza uguale tra i due sessi (gruppo altri ospedali liguri) o una lieve prevalenza del sesso femminile (gruppo San Martino).

Lo studio dell'INH-sensibilità o resistenza in base all'etnia non ha dimostrato significative differenze tra i pazienti dei due gruppi. In particolare, si è evidenziata nel gruppo San Martino la prevalenza dell'etnia caucasica sia tra i pazienti INH-sensibili sia tra quelli INH-resistenti, mentre nel gruppo altri ospedali liguri l'etnia non caucasica prevale tra i pazienti INH-sensibili e non è stata evidenziata la prevalenza di un'etnia sull'altra tra i pazienti INH-resistenti.

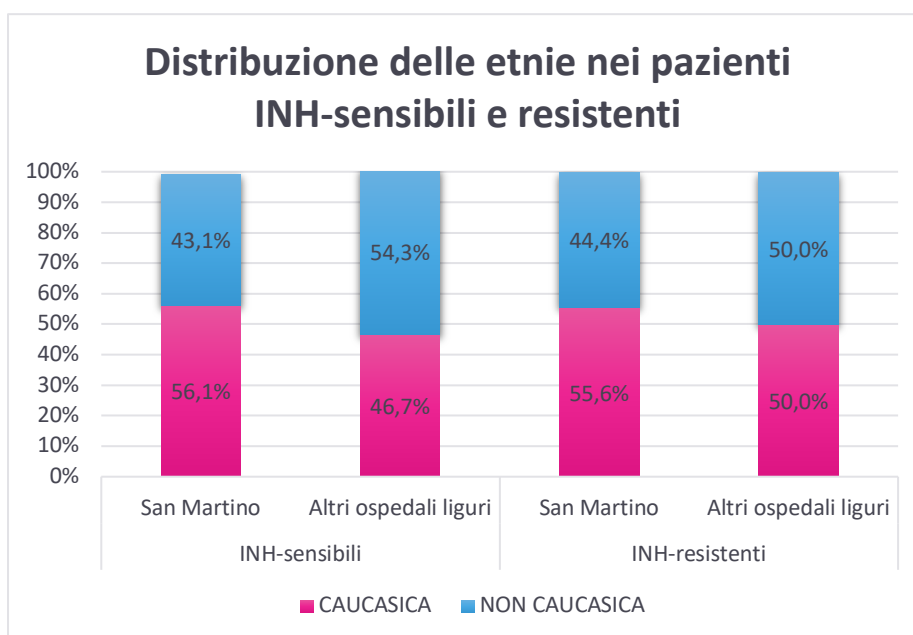


Figura 40- Distribuzione delle etnie caucasica e non caucasica nei pazienti INH-resistenti e INH-sensibili.

Per quanto riguarda i pazienti che presentavano resistenza alla rifampicina (3 pazienti: 2,4% del totale), questi appartenevano esclusivamente al gruppo San Martino, perciò non è stato possibile confrontarli con quelli del gruppo altri ospedali liguri. Le caratteristiche principali sono riassunte in tabella 10.

PAZIENTI CON RR-TB			
PAZIENTE	1	2	3
ANNO	2016	2017	2017
SESSO	M	F	M
ETA'	51	36	80
ETNIA	CAUCASICA	NON CAUCASICA	NON CAUCASICA
HIV	NEG	NEG.	N.E.
FR ANAMN.	NEG	NEG.	NEG.
NEW/RE-TREATED CASE	NEW CASE	NEW CASE	NEW CASE
SEDE TB	EXTRAPOLM	DISSEMINATA	EXTRAPOLM
COLTURALE ANY SITE	POS	POS	POS

Tabella 10- Caratteristiche dei pazienti con RR-TB.

4. Discussione

Scopo dello studio è stata la valutazione delle caratteristiche dei pazienti ricoverati presso la Clinica di Malattie Infettive dell'Ospedale Policlinico San Martino di Genova dal 1° Gennaio 2016 al 31 Dicembre 2019. I dati ricavati da questa analisi sono stati contestualmente analizzati tramite il confronto con i dati degli anni 2000-2015.

La coorte in studio comprendeva 134 pazienti con diagnosi di TB attiva e nessun paziente con infezione tubercolare latente. Per quanto riguarda il numero di ricoveri all'anno si è osservato un graduale aumento negli anni 2000-2011, in cui i ricoveri sono rimasti in un intervallo compreso tra 12 e 28 all'anno, con stabilizzazione tra i 30 e i 41 ricoveri annui dal 2012 al 2019 (mediana 33). Questo si dimostra in contrasto con quanto riportato dall'OMS nel documento "*Tuberculosis surveillance and monitoring in Europe 2019*" in cui si afferma che l'Europa è la regione OMS con il più alto tasso annuale di declino dell'incidenza della TB dal 2009 al 2018 (5,5%/anno) e che in l'Italia si è registrato un calo medio di incidenza/annua dello 0,6% dal 2013 al 2017.

Parallelamente è stato evidenziato un incremento dei pazienti di etnia non caucasica, che nella coorte in studio costituiscono il 50% del campione, al contrario di quanto si osserva negli anni 2000-2015, in cui l'etnia caucasica costituiva il 34,3% del campione.

Tra i pazienti non caucasici, l'etnia afrocaribica è quella prevalente, dato in accordo con il fatto che l'Africa è considerata una regione ad alta endemia per TB.

Considerando invece il luogo di nascita dei pazienti è risultato evidente come solo il 42,5% dei pazienti fosse nato in Italia, in accordo con in dati OMS secondo cui nel 2018 solo il 38,6% dei casi di TB si era verificata in soggetti nati in Italia, mentre il 59,1% in soggetti nati all'estero. Questi dati sono concordi con il fatto che l'Italia è considerato dall'OMS un Paese a bassa incidenza di malattia (<20 casi/100'000 abitanti).⁴⁹

In accordo con quanto riportato dall'OMS nel *Tuberculosis World Report* del 2019, la fascia d'età più rappresentata è quella compresa tra i 25 e i 44 anni e i pazienti in studio appartengono prevalentemente al sesso maschile (70,1% vs 29,9% di femmine). La prevalenza del sesso maschile è in linea anche con i dati rilevati negli anni 2000-2015.

Per quanto riguarda la localizzazione di malattia tubercolare, resta prevalente quella polmonare (67,9%), considerando però che l'11,2% dei pazienti presentano

contemporaneamente anche localizzazione extrapolmonare. Rispetto alla coorte precedente si è assistito a un decremento dei casi di TB polmonare a favore della TB disseminata, con assoluta prevalenza in pazienti afrocaribici.

Questo risulta in netto contrasto con i dati OMS relativi al 2018, in cui il 68,3% dei pazienti presentava esclusivamente la localizzazione polmonare e solo l'1,8% dei pazienti presentava anche quella extrapolmonare.⁴⁹

Rispetto ai dati del 2017 disponibili per l'Italia nel "*Tuberculosis surveillance and monitoring in Europe 2019*" il nostro studio ha dimostrato una prevalenza decisamente minore della coinfezione TB-HIV (10,7% vs 4,4%). Questo dato risulta confortante anche rispetto al gruppo 2000-2015, in cui la prevalenza della coinfezione era del 13,1%.

Considerando invece la suddivisione dei casi di TB in nuovi casi e casi già trattati, nel nostro studio si è rilevato che il 92,5% dei pazienti erano new-case, mentre l'OMS riporta che nel 2018 solo il 74,5% dei pazienti rientravano nella categoria new-case, il 3,5% in quella re-treated case e nel restante 22,0% non era nota la storia clinica dei pazienti. Si può supporre che questa discrepanza sia dovuta a una maggiore capacità della Clinica di Malattie Infettive del Policlinico di monitorare i dati relativi ai pazienti, mentre altri centri italiani potrebbero non essere stati a conoscenza della storia anamnestica dei pazienti e non aver trasmesso i dati.⁴⁹

L'analisi dell'outcome ha rivelato come solo il 56,0% dei pazienti sia stato dichiarato guarito, mentre il 32,1% dei pazienti sia stato perso al follow-up. Questo dato, sebbene evidenzia delle criticità nella gestione dei pazienti tubercolari, rappresenta un miglioramento rispetto agli anni 2000-2015, in cui era stato evidenziato come la quasi totalità dei pazienti venisse persa al follow-up dopo i primi due o tre controlli ambulatoriali. È stato inoltre possibile osservare come la scarsa compliance non dipenda dall'etnia o dalla nazionalità dei pazienti.

Un dato interessante riguarda i decessi: tra gli 8 pazienti deceduti 7 appartenevano all'etnia caucasica e solo uno a quella non caucasica. Ciò può essere spiegato dal fatto che i pazienti caucasici hanno un'età mediana molto più elevata dei non caucasici (57 anni vs 29 anni) e sono quindi pazienti più fragili e più facilmente affetti da comorbidità a causa dell'età più avanzata.

L'analisi dei pazienti con TB esclusivamente polmonare è stata svolta al fine di valutare quanti pazienti avessero avuto una diagnosi microbiologica ^[4] e, tra questi, quanti fossero stati testati per la farmacoresistenza. Considerando i soli pazienti con esame colturale eseguito su espettorato e/o BAL (72 pazienti), il 77,8% dei pazienti è risultato positivo, dato in linea con quello riportato nel *Tuberculosis surveillance report 2020* (80,9%). Tra questi pazienti il 100% aveva eseguito almeno un test che valutasse la presenza di resistenza ad INH e RMP, mentre nel Report OMS solo l'81,6% dei pazienti aveva eseguito questo test. Nonostante ciò nella nostra casistica nessun paziente presentava MDR-TB, mentre nella casistica OMS il 2,3% dei pazienti presentavano MDR-TB. Bisogna tuttavia considerare che i dati riportati dall'OMS per l'Italia sono incompleti.

Lo studio delle resistenze ai farmaci antitubercolari è stato condotto in modo da poter valutare l'andamento temporale delle resistenze nei pazienti ricoverati presso la Clinica di Malattie Infettive dell'Ospedale San Martino di Genova.

L'analisi ha mostrato che su 134 pazienti con TB attiva, solo 83 hanno eseguito un DST per la valutazione delle resistenze ai farmaci antitubercolari: tra questi, il 10,84% era resistente all'INH, il 2,63% alla RMP, l'1,20% all'EMB e l'1,20% ai fluorochinoloni; inoltre, solo un paziente presentava MDR-TB (0,88%).

Confrontando questi dati con quelli della coorte 2000-2015 si evidenzia come ci sia stata una riduzione percentuale di tutte le resistenze, ad eccezione di quella ai fluorochinoloni, che era assente nella coorte 2000-2015. Tuttavia, riguardo quest'ultimo dato, è necessario sottolineare come la resistenza ai fluorochinoloni venga ricercata esclusivamente tramite il tgm, che nella coorte 2000-2015 è stato eseguito esclusivamente in 9 pazienti.

Nonostante la prevalenza della resistenza all'INH sia quasi la metà rispetto a quella della coorte 2000-2015 (10,84% vs 20,33%), l'INH-resistenza rimane senza dubbio prevalente rispetto alle altre.

Infatti, l'Europa è tra le regioni OMS quella a più alta prevalenza di INH-resistenza: dallo studio della prevalenza dell'INH-resistenza nel mondo ^[5] emerge che nel 2019 il 25,4% dei nuovi casi di TB in Europa presentava resistenza ad INH, mentre le forme di MDR/RR-TB erano per lo più localizzate in India, Cina e Russia.²⁻⁴⁸

⁴ Secondo il criterio OMS sono stati considerati i pazienti con esame colturale positivo

⁵ *Prevalence and genetic profiles of isoniazid resistance in tuberculosis patients: a multicountry analysis of cross-sectional data* (A.S.Dean et al)

Per quanto riguarda le forme di MDR-TB non è stato osservato alcun caso negli anni 2017, 2018 e 2019, dato che appare positivo rispetto ai 15 anni precedenti in cui l'andamento si era mantenuto stabile con 10 casi totali.

Rispetto alla casistica precedente, in cui non era presente nessun paziente con resistenza isolata alla rifampicina, nella casistica 2016-2019 2 pazienti (1,8%) presentavano resistenza esclusivamente a questo farmaco.

Lo studio delle caratteristiche della popolazione dell'Ospedale San Martino rapportata a quella del territorio ligure ha evidenziato come in entrambe le popolazioni il rapporto M:F sia di circa 2:1, mentre per quanto riguarda l'etnia l'analisi ha dimostrato che quella caucasica era la più rappresentata tra i pazienti ricoverati all'Ospedale Policlinico San Martino (52,7%), quella non caucasica sul resto del territorio ligure (53,1%).

Anche in questo caso l'analisi delle resistenze ai farmaci antitubercolari ha dimostrato in entrambe le popolazioni una netta prevalenza dell'INH-resistenza, che aveva maggiore prevalenza tra i pazienti di San Martino (9,9%) rispetto a quelli liguri (3,8%). Tuttavia, è necessario considerare come sia possibile che ci sia stato un bias di selezione tra i pazienti di altri ospedali liguri, in quanto è possibile che siano stati inviati al laboratorio di analisi di San Martino solo i campioni biologici di quelli che erano i pazienti più critici.

Complessivamente, si evince quindi che la Liguria è una regione con poca prevalenza di forme di DR-TB.

5. Conclusioni

Lo studio ha messo in evidenza come la tubercolosi rimanga un problema costante all'interno dell'Ospedale San Martino, ripartito in modo equo tra l'etnia caucasica e quella non caucasica. Inoltre, ha permesso di definire come dal 2000 al 2019 ci sia stato un significativo aumento dei pazienti non caucasici, in particolare afrocaribici, che più frequentemente sono affetti da forme di TB disseminata o extrapolmonare.

I principali problemi nella gestione dei pazienti sono legati non tanto alla farmacoresistenza, che si è dimostrata in calo rispetto alla coorte 2000-2015 e complessivamente bassa sul territorio ligure, quanto alla perdita al follow-up.

Ringraziamenti

Vorrei ringraziare la mia relatrice, la Professoressa Malgorzata Karolina Mikulska, che mi ha seguita con grande disponibilità e pazienza, aiutandomi in modo sostanziale nello sviluppo dello studio ed indicandomi puntualmente quali modifiche apportarvi.

Ringrazio anche il mio correlatore, il Professor Antonio Di Biagio, che, insieme alla Professoressa Mikulska, ha contribuito alla scelta dell'argomento dell'elaborato e che mi ha indicato il corretto funzionamento del database utilizzato nella tesi.

Un grazie alla Dottoressa Laura Ambra Nicolini per avermi con pazienza spiegato l'utilizzo dei software dell'Ospedale San Martino, semplificando molto il mio lavoro di raccolta dei dati.

Grazie a Federico, statista-psicologo, che mi ha supportata e sopportata durante quest'ultimo anno di università e soprattutto durante la stesura della tesi. Grazie per la pazienza, incredibilmente inesauribile, e per il tempo che mi hai dedicato, grazie per avermi confortata e per avermi fatto capire che le cose si possono vivere anche senza ansia, o almeno averci provato.

Grazie a Beatrice, compagna di ansie e di sventure, l'unica persona che in questi 6 anni ha davvero compreso appieno come mi sentissi e che ha condiviso con me il peso di questo percorso, rendendolo più leggero.

Grazie ad Evelina, correttrice di bozza della tesi, perché riesce ogni volta a tranquillizzarmi ricordandomi che non sono io quella strana che si dimentica quello che ha studiato, ma è strano chi non lo fa.

Grazie a Paola, mia mamma, che al liceo ha imparato il greco per farmi ripetere e che da allora mi ha ascoltata ripetere per tutti questi 6 anni, credendo sempre in me stessa anche quando non lo facevo io.

Grazie a Giuseppe, mio papà, per avermi dato in tutti questi anni la possibilità di fare la bastian contrario.

Grazie a Thomas, la persona più generosa, autoironica e forte che conosca, perché in tutti questi anni hai sempre saputo farmi ritrovare il sorriso.

Infine, grazie a tutti quelli che mi sono stati accanto in questo percorso, che hanno sopportato le mie ansie e la mia isteria anche nei momenti più bui e senza cui non sarei arrivata probabilmente dove sono arrivata oggi.

Concludo dicendo che, purtroppo per tutti voi, non è ancora finita, io sono sempre io e sono sempre ansiosa: spero quindi che siate disposti a continuare a stare al mio fianco nei momenti che verranno, felici, ansiosi, tristi, arrabbiati, isterici che siano.

Bibliografia

1. Anne-Laure Banauls, Adama Sanou, Nguyen Thi Van Anh and Sylvain Godreuil, *Mycobacterium tuberculosis: ecology and evolution of a human bacterium*, Journal of Medical Microbiology 2015; 64, 1261-1269
2. Global tuberculosis report 2019. Geneva: World Health Organization; 2019. Licence: CCBY-NC-SA3.0IGO
3. A. Thomas Pezzella, *History of Pulmonary tuberculosis*, Thoracic Surgery Clinics 2019 Feb; 29(1), 1-17
4. Thierry Wirth, Falk Hildebrand, Caroline Allix-Béguet, Florian Wölbeling, Tanja Kubica, Kristin Kremer, Dick van Soolingen, Sabine Rüsche-Gerdes, Camille Locht, Sylvain Brisse, Axel Meyer, Philip Supply, Stefan Niemann, *Origin, spread and Demography of Mycobacterium tuberculosis complex*, PLoS Pathogens 2008, 4(9)
5. Thomas M. Daniel, *The history of tuberculosis*, Respiratory Medicine 2006; 100, 1862-1870
6. Mauro Moroni, Roberto Esposito, Spinello Antinori, *Malattie Infettive*, Milano, Edra Masson, 2014
7. Giovanni Delogu, Michela Sali, Giovanni Fadda, *The biology of Mycobacterium Tuberculosis*, Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases 2013, 5(1)
8. P.J. Brennan, *Structure, function, and biogenesis of the cell wall of Mycobacterium tuberculosis*, Tuberculosis 2003, 83, 91-97
9. Erik C. Hett and Erich J. Rubin, *Bacterial growth and cell division: a Mycobacterial perspective*, Microbiological and Molecular Biology Reviews 2008, 72(1): 126-156
10. Annick Ortalo-Magné, Marie-Ange Dupont, Anne Lemassu, Ase B. Andersen, Pierre Gounon and Mamadou Daffé, *Molecular composition of the outermost capsular material of the tubercle bacillus*, Microbiology 1995, 141, 1609-1620
11. *Interplay of human macrophages and Mycobacterium tuberculosis phenotypes* - Scientific Figure on ResearchGate: https://www.researchgate.net/figure/The-cell-wall-of-Mycobacterium-tuberculosis-MOM-mycobacterial-outer-membrane-LM_fig2_310467183 [accessed 27 Feb 2020]
12. Rachel L. Leistikow, Russell A. Morton, Iona L. Bartek, Isaac Frimpong, Karleen Wagner, and Martin I. Voskuil, *The Mycobacterium tuberculosis DosR Regulon Assists in Metabolic Homeostasis and Enables Rapid Recovery from Nonrespiring Dormancy*, Journal of Bacteriology Mar 2010
13. Peter M. Small, M.D., and Paula I. Fujiwara, M.D., M.P.H., *Management of Tuberculosis in United States*, The New England Journal of Medicine, Vol. 345, No. 3, 2001
14. Tiemersma EW, van der Werf MJ, Borgdorff MW, Williams BG, Nagelkerke NJD (2011) *Natural History of Tuberculosis: Duration and Fatality of Untreated Pulmonary Tuberculosis in HIV Negative Patients: A Systematic Review*. PLoS ONE 6(4)
15. Knut Lonnroth, Ernesto Jaramillo, Brian G. Williams, Christopher Dye, Mario Raviglione, *Drivers of tuberculosis epidemics: The role of risk factors and social determinants*, Social Science & Medicine 2009, 68, 2240-2246

16. Al-Hajj SA., *Risk factors for tuberculosis and beyond*, Internal Journal of Mycobacteriology 2017;6:326-7
17. Ernest Yorke, Yacoba Atiase, Josephine Akpalu, Osei Sarfo-Kantanka, Vincent Boima, and Ida Dzifa Dey, *The Bidirectional Relationship between Tuberculosis and Diabetes*, Tuberculosis Research and Treatment 2017; 2017: 1702578
18. C. R. Stevenson, J. A. Critchley, N. G. Forouhi et al., *Diabetes and the risk of tuberculosis: A neglected threat to public health?*, Chronic Illness, 2007 vol. 3, no. 3, pp. 228–245.
19. Lucy C. K. Bell and Mahdad Noursadeghi, *Pathogenesis of HIV-1 and Mycobacterium tuberculosis co-infection*, Nature Reviews Microbiology, 2018 Feb;16(2):80-90
20. WHO Regional Office for Europe/European Centre for Disease Prevention and Control. Tuberculosis surveillance and monitoring in Europe 2019 – 2017 data. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe; 2019
21. Stephen D Lawn, Alimuddin I Zumla, *Tuberculosis*, The Lancet, Jul 2011; Volume 378, 57-72
22. Vinay Kumar Abul Abbas Jon Aster, *Robbins and Cotran Pathologic basis of disease*, Ninth edition 2014, Elsevier
23. Jeremy Farrar Peter Hotez Thomas Junghanss Gagandeep Kang David Lalloo Nicholas White, *Manson's Tropical Diseases*, 23rd edition, Elsevier, 2013
24. Raúl Carrillo-Esper, Juan Andrés Méndez-García, *Imágenes en Medicina- Calcified Ranke Complex*, Revista de Investigación Médica Sur Mex, 2013, 20 (3): 190-191
25. V. Courtney Broaddus, Robert J. Mason, Joel D. Ernst, Talmadge E. King, Stephen C. Lazarus, John F. Murray, Jay A. Nadel, Arthur S. Slutsky, Michael B. Gotway, *Murray and Nadel's Textbook of Respiratory Medicine*, 6th edition, Elsevier, 2016
26. Lavina Vishnu Mirchandani, Sindhu S. Kamath, Jayalakshami Thelapurath Kutty, Aparna Iyer, *Epituberculosis Revisited: Case report and Review*, Journal of Clinical and Diagnostic Research, 2017 Sep, Vol-11(9): OD05-OD07
27. Jonathan Cohen William Powderly Steven Opal, *Infectious diseases*, 4th edition, Elsevier, 2017
28. Madkour M.M., Abusabaah Y., Mousa A.B., Al Masoud A., *Post-primary Pulmonary Tuberculosis*, Tuberculosis 2014, Springer, Berlin, Heidelberg
29. Eugene F. Geppert, Alan Leff, *The Pathogenesis of Pulmonary and Miliary Tuberculosis*, Archive of Internal Medicine 1979, vol 139
30. Downloaded from “LearningRadiology.com”, visitato in data 27/3/2020
31. Downloaded from “Radiopaedia.org”, visitato in data 4/3/2020
32. M. Moroni, S. Antinori, V. Vullo, *Manuale di Malattie Infettive*, Trento, Edra S.p.A., 2015
33. Jerome H. Chin, *Tuberculous meningitis- Diagnostic and therapeutic challenges*, Neurology: Clinical Practice, Jun 2014
34. Jabri H, et al. *Les moyens diagnostiques de la tuberculose*, Rev Pneumol Clin 2016
35. E. A. Debbia, *Microbiologia Clinica*, Casa editrice Esculapio, maggio 2018
36. WHO, Technical manual for drug susceptibility testing of medicines used in the treatment of tuberculosis. 2018, Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO
37. *Treatment of Tuberculosis: Guidelines*, 2010. Geneva: World Health Organization
38. WHO consolidated guidelines on drug-resistant tuberculosis treatment. Geneva: World Health Organization; 2019. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

39. Li Y, Sun F, Zhang W., *Bedaquiline and delamanid in the treatment of multidrug-resistant tuberculosis: Promising but challenging*. Drug Dev Res. 2019;80: 98–105.
40. *Companion handbook to the WHO guidelines for the programmatic management of drug-resistant tuberculosis*. Geneva: World Health Organization; 2014
41. *Guidelines for treatment of drug-susceptible tuberculosis and patient care, 2017 update*. Geneva: World Health Organization; 2017. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
42. José Francisco Pascual-Pareja, Raquel Carrillo-Gómez, Victor Hontañón-Antoñana, Mónica Martínez-Prieto, *Tratamiento de la enfermedad tuberculosa pulmonar y extrapulmonar*, Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, 2018;36:507–516.
43. ATS/CDC/IDSA, *Clinical Practice Guidelines for Drug-Susceptible TB*, Clinical Infectious Diseases, 2016;63(7): e147–95
44. NICE guideline, *Tuberculosis*, NICE; 13 Jan 2016
45. Elena Cattaneo, *Infezione da Mycobacterium tuberculosis nel periodo 2000-2015: evoluzione delle resistenze alla terapia antitubercolare*, Tesi di Laurea, 2017.
46. INMI “L. Spallanzani”, *Percorso Diagnostico Terapeutico Assistenziale sulla gestione del paziente con infezione/malattia tubercolare*, Rev. N. 08 del 13/01/2020
47. G. D’Ettore, E. Faccini, V. Mangiarotti, C. Scarparo, *Linee guida per il controllo della Tuberculosis nella Regione Veneto*, 2007
48. A. S. Dean et al, *Prevalence and genetic profiles of isoniazid resistance in tuberculosis patients: a multicountry analysis of cross-sectional data*, PLOS medicine, Gennaio 2020
49. WHO Regional Office for Europe/European Centre for Disease Prevention and Control. *Tuberculosis surveillance and monitoring in Europe 2020 – 2018 data*. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe; 2020

