

catena epidemiologica di diffusione, per approntare misure di contenimento nei reparti ad alto rischio (ematologie, oncologie, emodialisi e trapianti), e di profilassi e terapia nei pazienti esposti.

A questi requisiti rispondono piattaforme molecolari multiple e rapide, per l'identificazione differenziale di agenti virali mentre le tecniche di sequenziamento associate a studi di filogenesi consentono la tipizzazione degli isolati e la definizione della catena epidemiologica di trasmissione.

Scopo.

Allestimento di un sistema multiplo di real-time-PCR-TaqMan per l'identificazione e tipizzazione dei virus dell'influenza A (FluA) e B (FluB) nell'ambito del controllo nosocomiale dell'influenza nei reparti di oncoematologia.

Materiali e metodi.

Durante le stagioni 2004-2005 e 2005-2006 sono stati analizzati 82 materiali provenienti dalle vie respiratorie superiori di 64 pazienti in attesa di trapianto allogenico di cellule staminali. I risultati in real-time-PCR sono stati confrontati con quelli in PCR convenzionale. I campioni positivi sono stati sequenziati sul gene HA per stabilire la presenza di un cluster epidemico.

Risultati.

Mediante real-time-PCR sono stati identificati 18 campioni positivi per FluA (22%) e 4 per FluB (5%), 12 in più di quelli identificati con le tecniche di PCR tradizionali. 14 FluA appartenevano al sottotipo H3N2, 2 a H1N1, e 2 non erano tipizzabili. In accordo con i dati stagionali, nel 2004-2005 sono risultati positivi 13/30 (43%) campioni di cui 11 FluA e 2 FluB, mentre nel 2005-2006 solo 9/52 (17,3%: 7 FluA e 2 FluB). L'analisi della sequenza del gene HA dei campioni positivi in entrambe le stagioni, suggerisce la presenza di un unico cluster caratterizzato da una distanza filogenetica inferiore al 1,2%. In entrambe le stagioni è stata effettuata una profilassi specifica dei contatti con amantadina mentre e nei pazienti sintomatici è stato utilizzato un breve ciclo di terapia con inibitori della neuraminidasi virale, che ha risolto l'infezione senza complicazioni.

Conclusione.

La piattaforma di real-time-PCR associata all'analisi di sequenza degli isolati influenzali, è risultato strumento accurato, rapido, sensibile e specifico fornendo informazioni importanti nell'ambito della sorveglianza della diffusione dell'influenza nei reparti ad alto rischio, consentendo di attuare una corretta e pronta strategia di profilassi e terapia dei pazienti.

S7.4

IL RUOLO DELLA BIOLOGIA MOLECOLARE NEL CONTROLLO DELLE INFEZIONI BATTERICHE NOSOCOMIALI E NELLA CARATTERIZZAZIONE DELLE RESISTENZE AGLI ANTIBIOTICI

Carattoli A.

*Dipartimento di Malattie Infettive,
Parassitarie e Immuno-mediate,
Istituto Superiore di Sanità, Roma*

Le infezioni ospedaliere sono sicuramente causa, oltre che di decesso, anche di invalidità temporanea o permanente. Per controllare e ridurre le infezioni ospedaliere è necessario che le strutture agiscano su più fronti, ma un protocollo di sorveglianza attiva delle infezioni che si manifestano e un appropriato flusso informativo, che permetta l'identificazione e la quantificazione delle infezioni stesse nei diversi presidi, è forse il punto fondamentale.

Uno dei fenomeni più preoccupanti dell'epidemiologia delle infezioni batteriche a livello mondiale è rappresentato dall'emergenza e dalla rapida disseminazione di microrganismi con resistenze ad antibiotici. I microrganismi più problematici da questo punto di vista sono gli enterococchi, gli stafilococchi meticillino-resistenti, i gram-negativi, la *Candida* e i micobatteri tubercolari multiresistenti.

I batteri possono sviluppare resistenza agli antibiotici mediante modificazioni del loro patrimonio genetico per mutazione, oppure mediante acquisizione di geni che conferiscono la resistenza. Quest'ultimo fenomeno è quello che maggiormente determina la rapida acquisizione e diffusione di resistenze ad uno o più antibiotici da parte dei batteri patogeni gram-negativi. L'acquisizione di resistenze mediante trasferimento orizzontale può avvenire anche tra batteri di specie diversa e rappresenta una rapida risposta adattativa dei batteri di fronte all'uso degli antibiotici. A livello nosocomiale il fenomeno dell'antibiotico-resistenza è particolarmente veloce e a causa del largo uso di antibiotici, le popolazioni batteriche resistenti vengono rapidamente ed efficientemente selezionate rendendo problematico il trattamento terapeutico. Il controllo delle infezioni batteriche nosocomiali può essere affrontato mediante il monitoraggio delle popolazioni batteriche circolanti nell'ospedale, con particolare riferimento alla valutazione dell'incidenza e della prevalenza di ceppi resistenti ai farmaci di nuova generazione e più efficaci da un punto di vista clinico. La conoscenza dell'evoluzione della resistenza nei principali batteri patogeni, sia come studio della diffusione di particolari ceppi clonali, sia mediante studi molecolari dei geni

di resistenza e dei loro meccanismi di trasferimento è importante per comprendere l'evoluzione del fenomeno infettivologico.

Tra le specie batteriche che maggiormente evolvono verso una resistenza multipla agli antibiotici e che più facilmente acquisiscono geni di resistenza per trasferimento orizzontale ci sono *Klebsiella pneumoniae/oxytoca*, *Escherichia coli* e *Acinetobacter baumannii*, principali cause di infezioni polmonari, urinarie, e sistemiche di origine nosocomiale. In queste specie l'insorgenza di resistenze a farmaci di rilevanza clinica è in costante aumento in tutto il mondo e sono numerosi gli studi che dimostrano come l'insorgenza della resistenza in questi ceppi sia correlata con un aumento della degenza in ospedale per i pazienti e con un aggravamento delle condizioni generali. Per *Acinetobacter baumannii* le infezioni più pericolose riguardano i reparti di terapia intensiva in pazienti critici. In questi casi il sopraggiungere di una infezione può risultare letale per il paziente. La ricerca di base ha offerto negli ultimi anni degli strumenti di rilevamento diagnostico e caratterizzazione molecolare utili all'espletamento di queste indagini. Tuttavia, molti dei meccanismi che conferiscono la resistenza ai farmaci più recenti e più efficaci non sono ancora stati del tutto caratterizzati nei patogeni di rilevanza clinica, così come l'applicazione della biologia molecolare al riconoscimento dei ceppi clonali emergenti in determinati ambiti ospedalieri, non è alla portata di tutte le strutture né immediatamente disponibile in tempo reale per il contenimento delle emergenze infettivologiche.