

li inferiori alle 1000 copie/ml), mentre circa il 30% di essi presenta il virus nel fegato, in carica molto modesta, ma tale da confermare che circa un terzo dei soggetti HbsAg negativi anti-HBc positivi è portatore occulto del virus.

Da questi dati emerge l'importanza dell'integrazione tra la fase clinico-immunologica e quella microbiologica per la tipizzazione del donatore al fine di una definizione accurata del rischio di trasmissione di agenti infettivi e dell'idoneità alla donazione e al trapianto.

## S9.4

### ESPERIENZE NELLA SORVEGLIANZA DELLA INFEZIONE DA CITOMEGALOVIRUS UMANO NEL PAZIENTE TRAPIANTATO D'ORGANO SOLIDO E DI CELLULE STAMINALI EMOPOIETICHE

**Lilleri D., Gerna G.**

*Servizio di Virologia, IRCCS Policlinico "San Matteo", Pavia*

Le infezioni da citomegalovirus umano (HCMV) rimangono le maggiori complicanze del periodo post-trapianto nei pazienti riceventi trapianto di cellule staminali ematopoietiche e di organo solido, a causa della potente terapia immunosoppressiva cui questi pazienti sono sottoposti.

L'infezione da HCMV può essere sistemica (alta carica virale nel sangue associata a febbre, leucopenia e trombocitopenia) o localizzata (sintomi clinici di infezione virale nel singolo organo [e.g. polmoni] o apparati [tratto gastrointestinale]). I due tipi di infezione possono inoltre presentarsi associati. Le infezioni sistemiche da HCMV possono venire diagnosticate su campioni di sangue attraverso l'esecuzione di saggi di antigenemia o DNAemia: entrambi i saggi sono di tipo quantitativo. Le infezioni localizzate possono essere diagnosticate mediante l'isolamento del virus, la ricerca del DNA virale o saggi immunostochimici eseguiti su tessuti biopsici o secrezioni (e.g. liquido di lavaggio bronco-alveolare). Diverse strategie possono essere applicate la prevenzione della malattia da HCMV: negli USA si utilizza un approccio profilattico (ossia la somministrazione di farmaci antivirali a tutti i pazienti trapiantati nei primi mesi dopo il trapianto), mentre l'approccio presintomatico, che è più comune in Europa, consiste nella somministrazione mirata dell'antivirale solo in quei pazienti che presentano nel sangue una predeterminata carica virale indicativa del rischio di sviluppare la malattia. Questo approccio necessita di un monitoraggio virologico stretto dei pazienti nei primi tre mesi dal trapianto. Il simultaneo follow-up virologico ed immunologico potrebbe rappresentare il migliore metodo per un efficiente monito-

raggio delle infezioni da HCMV nei trapiantati. Infatti, la mancata ricostituzione o sviluppo di una efficace immunità anti-HCMV induce ripetuti episodi di infezione che necessitano molteplici cicli di trattamento antivirale, mentre una ricostituzione di una risposta immune cellulo-mediata sia CD4+ che CD8+ porta al controllo a lungo termine dell'infezione.

## S9.5

### IL RUOLO DEL MICROBIOLOGO CLINICO NELLA SICUREZZA TRASFUSIONALE: OBIETTIVI ATTUALI E PROSPETTIVE FUTURE

**Magliano E., Ursitti A.\***

*Dipartimento di Sanità Pubblica, Microbiologia e Virologia, Università degli Studi, Milano*

*\* Servizio di Microbiologia, Ospedale "Sandro Pertini", Roma*

Nonostante l'accurata selezione dei donatori e l'introduzione di test di screening sierologici e molecolari, il rischio di contrarre infezione attraverso prodotti trasfusionali è oggi notevolmente ridotto ma ancora presente.

La ricerca di agenti infettivi attraverso test di screening pre-trasfusionali mostra significative differenze tra i vari Paesi a causa della diversa distribuzione geografica degli agenti infettivi e, per alcuni di questi, per i dubbi ancora esistenti sul loro reale potere patogeno. Gli agenti infettivi di sicura rilevanza clinica per l'uomo, trasmissibili attraverso prodotti trasfusionali (sangue ed emoderivati), ed ampiamente diffusi nel mondo sono HIV 1/2, HBV, HCV, HTLV I e II, CMV, Parvovirus B19, HAV e *Treponema pallidum*. Lo screening per tali patogeni è obbligatorio anche se con alcune differenze in vari Paesi, tra cui Francia, USA, Giappone, Germania, Olanda, Portogallo, Svezia e Regno Unito.

In Italia lo screening è obbligatorio solo per AIDS (anti HIV1/2), epatite C (anti HCV e HCV-NAT), epatite B (HBsAg) e sifilide (ricerca degli anticorpi). La diffusione di metodiche in grado quindi di identificare il marcatore di infezione sotto forma di antigene o anticorpo ha permesso di introdurre il concetto di periodo finestra, definito come tempo che intercorre tra momento dell'infezione e comparsa in circolo di anticorpi (periodo finestra anticorpale) o proteine virali a livelli determinabili (periodo finestra antigenico). Al fine di ridurre il periodo finestra per garantire la massima sicurezza trasfusionale possono essere utilizzate metodiche, caratterizzate da elevata sensibilità e specificità, in grado di identificare i vari agenti patogeni attraverso la determinazione dei rispettivi acidi nucleici.

In Italia dal 2002 è stato introdotto lo screening obbligatorio per HCV-RNA; non esiste invece una presa di

posizione ufficiale da parte delle Autorità Sanitarie Nazionali sull'estensione dello screening NAT anche all'HIV-RNA e HBV-DNA, anche se in diverse regioni esso viene eseguito sulla base di singole delibere regionali.

Mentre la diffusione di tali metodiche ha contribuito a ridurre il rischio della trasmissione delle malattie virali, particolare attualità ed interesse assume invece la possibilità di contaminazione batterica degli emocomponenti, in particolare dei concentrati piastrinici.

Se infatti il rischio di infezione batterica per trasfusione di globuli rossi è molto basso (negli USA 1 decesso/anno, a fronte di circa 14 milioni di unità trasfuse ogni anno), e legato soprattutto ad infezioni da batteri Gram negativi, le caratteristiche della trasfusione piastrinica predispongono più facilmente ad un rischio di infezione batterica. Le piastrine vengono infatti conservate tra 20 e 24° C, e questo le rende un ottimo terreno di coltura per la crescita di batteri, soprattutto Gram positivi, appartenenti alla flora batterica cutanea residente o transitoria del donatore, come *Staphylococcus epidermidis* e *Bacillus cereus*.

Il rischio di ricevere piastrine contaminate da batteri viene considerato da 10 a 1000 volte più alto di quello relativo ad infezioni virali da HIV, HBV, HCV e HTLV, con rischio di contaminazione della singola unità piastrinica compreso tra 1/2000 e 1/3000 unità e rischio di mortalità per grave reazione settica in 1 caso su 50.000 trasfusioni.

I metodi di prevenzione del rischio di infezione batterica prevedono la massima attenzione nella scelta del donatore con accurata preparazione e disinfezione della cute, la rimozione dei primi 10-30 ml di sangue della donazione, e l'uso preferenziale di piastrine da aferesi rispetto a concentrati piastrinici da sangue intero.

Per la rivelazione dei batteri possono essere utilizzati diversi metodi, che vanno dai sistemi automatici e semiautomatici di coltura batterica, anche in fase liquida, alla rivelazione attraverso tecniche di biologia molecolare. Queste ultime, per la loro elevata sensibilità e specificità e per la notevole rapidità di esecuzione, rappresentano teoricamente un metodo ideale per rilevare una contaminazione batterica di emocomponenti. Già attualmente è possibile la ricerca di DNA batterico attraverso l'ibridazione con sonde specifiche su coltura oppure per mezzo di PCR real-time con amplificazione del 16S rRNA. Esiste inoltre la possibilità di identificare batteri dopo marcatura con antibiotici fluorescenti, attraverso l'evidenza di componenti della parete batterica, con metodi dielettroforetici, per mezzo di colorazione di Gram o arancio acridina, o indirettamente attraverso la rivelazione di endotossine o misura del grado di produzione di CO<sub>2</sub> e di O<sub>2</sub>.

Quanto finora ricordato evidenzia chiaramente il ruolo rilevante ed insostituibile del microbiologo clinico nei programmi per la sicurezza trasfusionale, ovviamente nell'ambito di una gestione multidisciplinare aperta a tutte le professionalità coinvolte nelle fasi di donazio-

ne degli emocomponenti. Tale coinvolgimento implica l'obbligo per il microbiologo clinico di acquisire le conoscenze, anche tecniche, gestionali e medico-legali, indispensabili per una sua ottimale integrazione con tutti gli altri settori coinvolti nella donazione, come la medicina trasfusionale, l'ematologia clinica e la chirurgia dei trapianti d'organo.