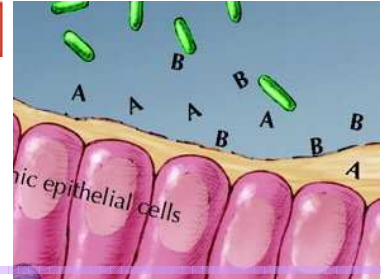
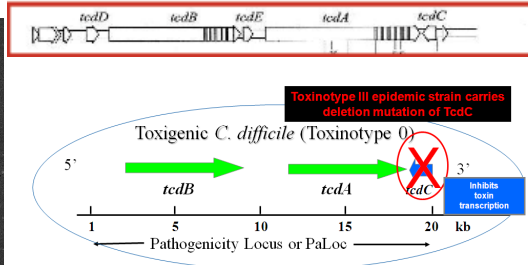
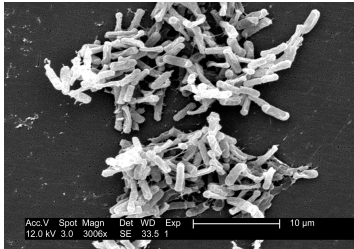


Clostridium difficile: un anno di sorveglianza all'Ospedale S.Chiara di Trento



S.D'Arcangelo¹, L.Collini¹, C.Nuzzo¹, L.Palazzi¹, S.Allibardi², E.Leone², R.Piona², N.Vajente², T.Favaro², P.Lanzafame¹
¹U.O. Microbiologia – Ospedale S.Chiara - Azienda Provinciale per i Servizi Sanitari - Provincia Autonoma di Trento
²Cepheid Italia - Biotech

C. difficile è la principale causa di diarrea infettiva nosocomiale. I fattori di rischio per l'infezione sono legati soprattutto all'ambiente ospedaliero (contatto con pazienti infetti, profilassi e terapia antibiotica protratta e combinata, mani del personale, presidi sanitari, durata della degenza, etc.).



L'azione patogena di *C.difficile* è mediata a livello locale intestinale dalle produzioni di tossine; i fattori di rischio tradizionalmente implicati nell'acquisizione dell'infezione sono: le condizioni dell'ospite (senilità, difetti del sistema immunitario, comorbidità), l'aumentata esposizione alle spore di *C.difficile* (ricoveri prolungati, ambiente ospedaliero, compagni di stanza infetti o personale sanitario portatore di germi) e fattori che alterano la normale flora microbica intestinale (antibiotici, massivo utilizzo di fluorochinoloni, antiacidi e altre procedure assistenziali).

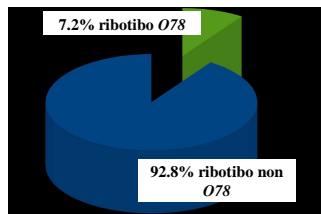


Figura 1: diffusione (%) del ribotipo presuntivo 078 versus il ribotipo non 078

Nel periodo gennaio - dicembre 2012 sono pervenuti al nostro laboratorio, da reparti ospedalieri, ambulatori esterni e residenze protette, 1929 campioni di feci per diagnosi di infezione da *C.difficile*. In base ai criteri di appropriatezza diagnostica sono stati giudicati idonei i campioni rientranti nei gradi 5-7 della *Bristol stool chart* per cui 216 sono stati scartati. I restanti 1713 sono stati processati con PCR RealTime in microfluidica *GeneXpert* (Cepheid), test in grado di rilevare 3 target: tossina B, tossina binaria e la delezione tcdC. 473 pazienti (27.6%) sono risultati positivi per la presenza di *C.difficile* tossinogenico; di questi 34 (2.0%) erano positivi anche per tossina binaria (Figura 1), genotipo riconducibile al ribotipo 078. Nessun campione è risultato appartenere al ribotipo *BI/NAP I*.

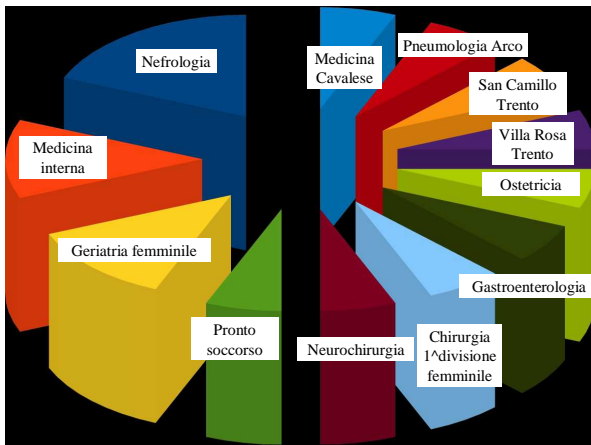
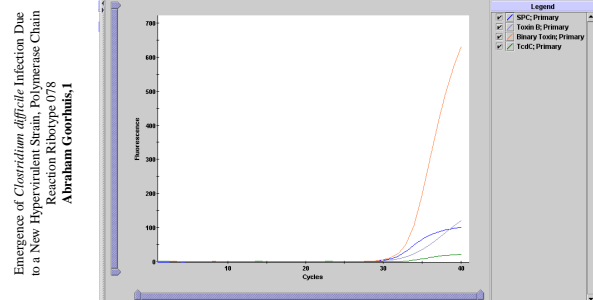
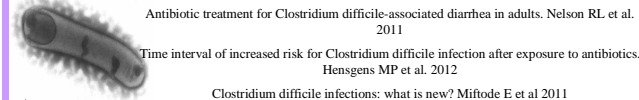


Figura 2: la diffusione del ceppo 078 nell'Ospedale di Trento e nei distretti periferici

Il Grafico 1 riporta il caso di una paziente 34enne che, sottoposta ad analisi per *Clostridium difficile*, è risultata positiva per il ceppo 078. Il ribotipo 078 contiene geni che codificano per tossina A, tossina B, tossina binaria, e una delezione di 39 basi nel gene regolatore della tossina tcdC, oltre ad una mutazione puntiforme in posizione 184 che dà luogo ad un codone di stop.



La proteina risultante è parzialmente funzionante: la produzione di tossina binaria è in parte deregolata (grafico 1), aumentando la virulenza del ceppo. A livello terapeutico, è stato visto infatti che per l'infezione da ceppo 078 la terapia convenzionale con metronidazolo risulta inappropriata.



In Europa è stato documentato negli ultimi anni un incremento delle infezioni dovute al ribotipo 078.

La diffusione dei ceppi di *C. difficile* ribotipo 078 nella nostra realtà e in Italia è al momento molto contenuta. I nostri dati confermano tuttavia l'utilità di una diagnosi presuntiva immediata per implementare adeguate misure di contenimento, alla luce dei reparti di provenienza dei pazienti positivi al ribotipo 078 (Figura 2).

Alla luce di questi dati sarebbe opportuno effettuare studi di genotipizzazione mediante *Multilocus Sequence Typing* (MLST) i ceppi produttori di tossina binaria in modo da poter confrontare le sequenze intrageniche di sette geni *housekeeping*. La combinazione unica di alleli che si ottiene con il sequenziamento permette di assegnare un determinato *Sequence Type* (ST). Ciò potrebbe portare ad un miglioramento nella gestione dei casi di infezione da *C. difficile* (CDI) inducendo una maggiore uniformità dei programmi di sorveglianza attiva, a partire da trattamenti appropriati, come l'isolamento del paziente, per limitare nel più breve tempo possibile la trasmissione del patogeno.

In più, per fare fronte all'emergenza si stanno sviluppando anche nuovi approcci terapeutici: fidaxomicina, ε monoclonali contro le tossine A e B; immunoglobuline per via endovenosa; terapia probiotica; fecal microbiota transplanta

