

che conformazioni dei nucleosomi, capaci a loro volta di regolare l'attivazione o la repressione trascrizionale. In particolare, il passaggio da uno stato di totipotenza ad una condizione di orientamento fenotipico in cellule multi/totipotenti potrebbe essere spiegato, almeno in parte, dall'insorgenza di complessi rimodellamenti della struttura cromatinica. L'acetilazione di istoni è stata a lungo associata all'attivazione trascrizionale e ad un incremento delle capacità differenziali in toto di cellule multipotenti. Le risposte cellulari associate ad iperacetilazione istonica sono risultate essere fortemente potenziate in presenza di inibitori delle metiltransferasi, quali la 5-aza-2'deoxytydine (5-aza). È stato evidenziato come la concomitante inibizione di istone deacetilasi, con conseguente iperacetilazione istonica, e l'inibizione di DNA metiltransferasi aumentassero ulteriormente la stessa acetilazione istonica, provocando un'induzione sinergica dell'attività trascrizionale.

Abbiamo recentemente sviluppato esteri misti di acido ialuronico con acido retinoico e acido butirrico, inibitore delle istone deacetilasi, che sono risultati essere in grado di indurre l'attivazione di profili di espressione genica responsabili del differenziamento cardiaco in cellule embrionali staminali totipotenti murine (Ventura C, Maioli M, Asara Y, Santoni D, Scarlata I, Cantoni S, Perbellini A. *J Biol Chem* 279:23574-23579, 2004). Gli effetti prodotti a livello trascrizionale dagli esteri misti dell'acido ialuronico si sono tradotti in un drammatico aumento della resa del processo cardiogenetico.

Questi risultati dimostrano per la prima volta che il programma differenziativo delle cellule staminali può essere chimicamente modificabile senza ricorrere a procedimenti complessi e potenzialmente rischiosi di trasferimento genico mediante vettori virali. Tale scoperta potrebbe aprire la strada verso approcci innovativi di bioingegneria tissutale e rigenerazione miocardica.

S9.2

DONATORI MULTIORGANO E MARGINALI: CRITERI MICROBIOLOGICI DI IDONEITÀ

Ghisetti V.

*S.C. Microbiologia, Ospedale Molinette,
corso Bramante 88, 10126 Torino*

Data la scarsità di organi disponibili e la disparità con il numero dei riceventi in lista di attesa si è vista la necessità di espandere il pool di donazioni definendo strategie elettive per l'utilizzo di organi da donatori a rischio cosiddetto "calcolato". Rientrano in tale situazione donatori in cui la presenza di uno specifico agen-

te patogeno o di uno stato sierologico depongono per un potenziale rischio di trasmissione di agenti infettivi. Tali situazioni sono compatibili con il trapianto in riceventi che presentino condizioni tali da rendere minimo il rischio di trasmissione perché anch'essi affetti dallo stesso tipo di infezione oppure provvisti di anticorpi specifici e quindi protetti (CNT, 26 novembre 2003). Il laboratorio di Microbiologia riveste un ruolo sempre più importante nella valutazione delle situazioni di marginalità della donazione d'organo perché è necessaria una tipizzazione microbiologica sensibile, specifica, accurata e rapida per definire le condizioni di rischio di trasmissione degli agenti infettivi al ricevente e l'idoneità alla donazione. L'introduzione delle tecniche molecolari per l'identificazione dei virus epatitici B (HBV), C (HCV) e HIV in soggetti sierologicamente negativi o con segni di infezione pregressa ha migliorato molto la definizione del rischio associato alla donazione, come anche la disponibilità di farmaci antivirali per la profilassi specifica di certe infezioni (HBV) nei riceventi a rischio.

Le condizioni di donazione a rischio calcolato sono le seguenti:

- a) donatori HbsAg positivi;
- b) donatori HbsAg negativi ma con sierologia positiva per HBV;
- c) donatori anti-HCV positivi;
- d) donatori con meningite o batteriemici MA in trattamento antibiotico da almeno 24 ore.

L'esperienza di molto Centri circa l'utilizzo di organi con infezione da HCV in riceventi HCV positivi ha messo in evidenza che la sopravvivenza a 5 anni di tali pazienti è molto simile a quella dei pazienti HCV positivi con donatori anti HCV negativi. Più problematico è l'uso di organi da donatori HbsAg positivi o con pregressa infezione da HBV (portatori occulti). Nei Centri dove si eseguono trapianti di fegato da donatori HbsAg positivi, in riceventi HbsAg positivi ad esclusione delle coinfezioni da virus Delta, il follow-up di tali pazienti ha evidenziato che nonostante una profilassi combinata con immunoglobuline specifiche e antivirali nessuno dei riceventi elimina il virus B, tutti rimangono HbsAg positivi richiedendo una terapia antivirale prolungata, con elevato rischio di sviluppare farmacoresistenza. L'infezione occulta da HBV è rivelabile nel siero dalla positività per anticorpi contro il core di HBV (anti-HBc) in soggetti HbsAg negativi, associata o meno alla presenza di altri indicatori sierologici di pregresso contatto con il virus. Tale condizione è molto frequente nelle popolazioni dei donatori di organo (24% in Italia, dati NIT del 2005), più alta che nella popolazione generale (valori intorno al 5%) e si associa ad un rischio di trasmissione di HBV con il trapianto di fegato che va dal 30 al 70% dei casi, in assenza di profilassi del ricevente. I test molecolari sui materiali biologici di tali donatori hanno evidenziato che solo una piccola frazione di essi è positiva per HBV DNA nel siero (non oltre il 10% con cariche vira-

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