

relazioni

SESSIONE 8

Nuovi argomenti in Micologia e in Parassitologia

Venerdì 11 giugno 2004, 9.00-13.00, Sala D

S8.1

MICETI E MICOSI EMERGENTI: EPIDEMIOLOGIA E CLINICA

^{1,2}Farina C., ^{2,3}Lombardi G.

¹UO Microbiologia, AO 'Ospedale San Carlo Borromeo', Milano;

²Laboratorio di Microbiologia, Ospedale di Circolo e Università dell'Insubria, Varese;

³Comitato per lo Studio della Micologia (CoSM)

Le infezioni fungine sistemiche sono da molti anni riconosciute come alcune delle complicanze opportunistiche più severe che colpiscono i soggetti a rischio.

Nel corso degli ultimi decenni si è assistito ad un notevole aumento dell'incidenza di tali infezioni, dovuto a diversi fattori predisponenti, tra i quali possiamo ricordare le malattie onco-ematologiche, l'infezione-malattia da HIV, i trapianti d'organo solido e di midollo osseo, le ustioni, la prematurità.

Inoltre, l'avvento di nuovi e più efficaci protocolli terapeutici ha portato ad un notevole aumento dell'aspettativa di vita dei soggetti immunodepressi, esponendoli però ad un maggiore rischio di contrarre infezioni opportunistiche.

L'ambiente stesso deve essere considerato come una potenziale sorgente di infezione, soprattutto in caso di lavori di ristrutturazione o di costruzione nei pressi o all'interno degli stessi Reparti di degenza.

I lieviti rappresentano i più comuni agenti di patologie umane di natura micotica, tuttavia si è notato un notevole cambiamento, poichè *Candida albicans*, che una volta era ritenuta responsabile dell'80-90% delle infezioni, è scesa al 60% circa, mentre è notevolmente aumentata la percentuale di isolamenti di specie non-*albicans*. Anche i *pattern* di sensibilità ai farmaci antifungini sono cambiati, perchè alcune specie hanno nel

tempo sviluppato resistenze nei confronti di alcuni farmaci antimicotici: a tale proposito è opportuno ricordare che, a causa di queste resistenze, l'identificazione di un ceppo lievitoforme solo a livello di genere (ad es., *Candida* spp.) deve essere considerata inaccettabile.

Tra i miceti filamentosi *Aspergillus* spp. rimane il microorganismo di più frequente riscontro nelle infezioni umane: oltre alle forme tipicamente invasive (aspergilloma, aspergillosi polmonare ed extrapolmonare) non può tuttavia essere ignorata la capacità di estrisciazione clinica proteiforme, di cui la sindrome polmonare allergica è la manifestazione clinica più evidente. Se il quadro clinico delle micosi sembra essersi, modificato negli ultimi decenni, anche dal punto di vista strettamente eziologico si è registrato l'emergere di casi di micosi causate da altri ifomiceti (sia jalini che dematiacei), quali *Fusarium*, *Scedosporium*, *Exophiala*, *Cladosporium*, *Rhizopus*, *Mucor*, la cui identificazione almeno a livello di genere è fondamentale per indirizzare il clinico verso un trattamento appropriato. L'emergere dell'"opportunità" comporta oggi l'opportunità di valutare con attenzione ed in modo strettamente interdisciplinare l'isolamento di miceti caratteristicamente tellurici, considerandone i dati biologici alla luce del quadro clinico e di quello anamnestico.

Dal punto di vista della gestione clinica importanti evoluzioni debbono essere considerate degli autentici successi del progresso scientifico applicato alla microbiologia clinica ed alle malattie infettive: si considerino, da un lato, la standardizzazione dei tests di chemioantibioticosensibilità proposta (per talune molecole e per taluni miceti) da NCCLS e, dall'altro, lo sviluppo di nuove molecole o la disponibilità di nuove formulazioni di molecole che continuano a rappresentare il *gold standard* per la terapia antifungina.

Infine, è interessante notare che anche l'ambiente di lavoro o quello domestico possono essere responsabili di patologie ad eziologia fungina: negli Stati Uniti, ad esempio, sono già numerosi i casi segnalati di quella

che viene chiamata “*sick building syndrome*”, dovuta all’inalazione di conidi (soprattutto di *Stachybotrys* spp.) da parte di persone che vivevano in ambienti pesantemente contaminati da questo micete. Alcuni ceppi di questo micete sono in grado di produrre micotossine molto potenti, che possono causare gravi disturbi e, in alcuni casi, portare a morte.

S8.2

LA BIOLOGIA MOLECOLARE IN MICOLOGIA

¹Faggi E., ²Andreoni S.

¹Dipartimento di Sanità Pubblica

- Sezione Microbiologia, Università di Firenze

²Azienda Ospedaliera Maggiore della Carità, Novara

La biologia molecolare, nell’ambito della micologia medica, può essere impiegata sia a scopo diagnostico che epidemiologico.

In campo diagnostico le biotecnologie possono essere utilizzate per la ricerca dei miceti direttamente nel materiale patologico permettendo di arrivare ad una diagnosi più rapida rispetto all’impiego delle metodiche classiche (esame colturale) e si possono rivelare particolarmente utili nella diagnosi di micosi profonde quali aspergillosi, candidosi, criptococcosi, istoplasmosi, pneumocistosi.

La PCR è la metodologia più ampiamente impiegata. Essa può essere utilizzata in combinazione con altre tecniche (PCR-ELISA, PCR-Restriction Enzyme Analysis ecc) o non in combinazione (semplice PCR, Nested PCR). I primers sono per lo più ricavati da sequenze di geni nucleari codificanti per proteine, sequenze di regioni ITS del DNA nucleare, sequenze rDNA nucleare, sequenze rDNA mitocondriale. La varietà di metodologie e la varietà di primers ha portato però a risultati non sempre ben confrontabili; inoltre un international consensus (Clin. Infect. Dis. 2002, 34, 7-14) sconsiglia l’impiego della PCR per la diagnosi di aspergillosi a causa delle false positività e di metodi commerciali non standardizzati. Nuove prospettive si aprono con l’impiego della real-time PCR.

In campo epidemiologico la biologia molecolare può essere utilizzata per identificare e tipizzare stipti funghi.

A partire dagli anni ‘80, con il presupposto che l’identificazione del genoma corrisponda alla identificazione di uno stipte, ha trovato un sempre più vasto favore la tipizzazione genotipica. Da allora, diversificazioni intraspecie tali da consentire una biotipizzazione genotipica sono state ottenute fondamentalmente: i) mediante cariotipizzazione, a seguito di separazione elettroforetica in campo pulsante di molecole di DNA di grandezza cromosomica; ii) ponendo in evidenza e

confrontando bande elettroforetiche di frammenti di DNA-ribosomale e di DNA-mitocondriale ottenuti con l’impiego di endonucleasi (DNA-polimorfismo da enzimi di restrizione); iii) mediante ibridizzazione con sonde DNA o RNA e, più recentemente, mediante iv) PCR fingerprinting e v) sequenziamento genomico.

I differenti approcci metodologici, le finalità degli indirizzi di ricerca, l’avvento di nuove tecnologie, rendono difficoltoso un inquadramento di questi sistemi di tipizzazione, così come eventuali correlazioni o confronti.

La validazione di un sistema di tipizzazione dovrebbe prevedere una valutazione delle prestazioni in base ai criteri di tipizzabilità, riproducibilità, stabilità, potere discriminante, nonché costo, rapidità e facilità di esecuzione. Nel considerare e selezionare il marcatore molecolare ottimale andrebbero attentamente considerati anche i concetti di spazio e tempo. Questi criteri dovrebbero essere valutati ogni volta che una nuova metodologia viene applicata o vengono modificati i parametri in un protocollo sperimentale.

S8.3

IL MONITORAGGIO DELLA TERAPIA ANTIFUNGINA

¹Manso E., ²Fazii P.,

¹Sezione di Microbiologia, Laboratorio di Analisi. Azienda Ospedaliero Universitaria. Ospedali Riuniti Umberto I°, G.M. Lancisi, G. Salesi. Ancona

²Sezione di Microbiologia, Laboratorio di Analisi. Ospedale Civile S. Spirito, Pescara

Dal 1970 il tasso di infezioni fungine è aumentato significativamente, in associazione con diversi cambiamenti nella pratica clinica (estensione delle terapie immunosoppressive, frequenza dell’uso di antibiotici ad ampio spettro a volte in modo indiscriminato, utilizzo di cateteri intravascolari) e con la comparsa dell’AIDS.

Inoltre, stanno diventando sempre più comuni le infezioni fungine opportunistiche da funghi resistenti agli antifungini. I test di laboratorio eseguiti con i farmaci antifungini servono a determinare la minima concentrazione del farmaco necessaria ad inibire lo sviluppo *in vitro* di un particolare fungo o per misurare le concentrazioni dell’antifungino nel siero dei pazienti in terapia. Gli agenti antifungini usati comunemente nel trattamento delle infezioni superficiali (ad es. nistatina e griseofulvina) non richiedono monitoraggio di laboratorio. Un grosso sforzo è stato eseguito per sviluppare metodi standardizzati, riproducibili e clinicamente rilevanti per studiare la suscettibilità dei funghi ai farmaci antifungini. La resistenza antifungina comprende nell’attualità l’emergenza di specie resistenti natural-