

Microbiologia Anaerobica



Passato, Presente



e futuro?

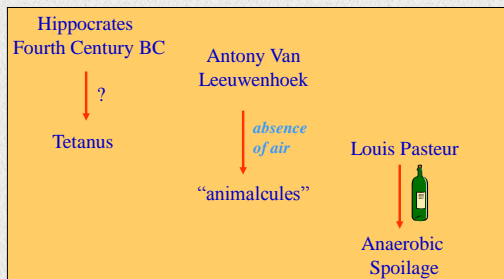


Professor Peter Silley

*BSc(Hons) PhD, FRSM, FSB, FIFST
Professor of Applied Microbiology
University of Bradford*

*Director, MB Consult Limited
www.mbconsult.com*

Origini



I Pionieri



I Pionieri

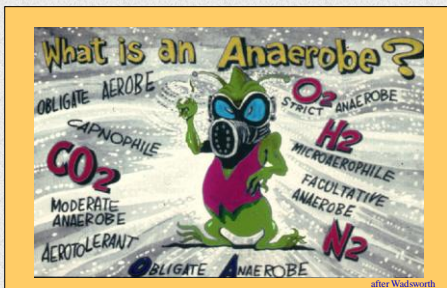


Pasteur

Notò la particolare gravità delle infezioni sperimentali in animali, provocate dalla iniezione di vibriani setici e piogenici, anaerobi non identificabili od aerobi

Egli definì la malattia “infezione purulenta” o “bacteremia purulenta”. Si tratta probabilmente della prima osservazione di una infezione anaerobica

Anaerobi Che cosa sono?



United States National Hospital Survey of Anaerobic Culture and Susceptibility Methods

“Malgrado il materiale educativo e le linee guida pubblicate, la batteriologia clinica anaerobica non è applicata in modo uniforme e dovrebbe essere migliorata. Si dovrebbe inoltre insistere per mettere in evidenza l’importanza sempre più determinante della batteriologia anaerobica ed il miglioramento delle sue prestazioni da un punto di vista analitico”

Goldstein, EJC., Citron, DM., Goldman RJ., Claros, MC. & Hunt-Gerrado, S. *Anaerobe* (1995) 1:309-314

Definizioni

- ◆ Un anaerobio è un organismo che
 - Dimostra una sensibilità estrema all'ossigeno, il che significa che non può svilupparsi in una atmosfera aerobica
 - Crea energia e metabolizza i substrati senza l'impiego dell'ossigeno
 - E' incapace di moltiplicarsi in presenza di aria in quanto riceve l'ossigeno essenziale da un'altra sorgente di energia

Classificazione

- ◆ Microaerofili
 - Condizioni di sviluppo ottimali in atmosfera >0.3% and <20% air
 - ◆ *Campylobacter* spp
- ◆ Anaerobi aerotolleranti
 - Condizioni di sviluppo ideali con basso livello di ossigeno, ma in grado di moltiplicazione aerobica su agar sangue
 - ◆ *Clostridium histolyticum*, *Clostridium tertium*

Classificazione

- ◆ Anaerobi Moderati
 - Condizioni di sviluppo ottimali ad una concentrazione di ossigeno <3%
 - ◆ *B. fragilis*, *Cl. novyi* type A, *P. melanogenicus*
- ◆ Anaerobi Stretti
 - Condizioni di sviluppo ottimali ad una concentrazione di ossigeno <0.5%
 - ◆ *T. denticola*, *S. ruminantium*, *C. novyi* type B
- ◆ Anaerobi estremamente sensibili all'ossigeno
 - Moltiplicazione possibile solo con una concentrazione di ossigeno <0.03%
 - ◆ methanogens

Metodi per lo sviluppo di Organismi Anaerobi

Metodi Principali

- ◆ Giare Anaerobiche
 - Evacuazione-sostituzione
 - Generazione interna di gas
 - Assorbimento interno di ossigeno
- ◆ Stazione di lavoro anaerobica



Qualità del campione

La maggior parte delle infezioni anaerobiche sono dovute ad una popolazione microbica di origine indigena. Esistono diverse centinaia di specie che sono coinvolte in infezioni. Le infezioni anaerobiche sono associate ad un polimicrobismo spesso complesso, ed è pertanto utile per il clinico ed il microbiologo conoscere quali organismi sono coinvolti nel processo infettivo

Finegold 1995

Rimozione dell'ossigeno

- ◆ L'impiego del palladio come catalizzatore è il metodo più comune e conveniente da un punto di vista economico per ottenere l'anaerobiosi
- ◆ L'Ossigeno è ridotto ad acqua in presenza di un attivo catalizzatore
 - Il rapporto idrogeno / ossigeno deve essere >2:1

Raffronto di isolamenti di anaerobi

- ◆ Giara incubata per 24 ore, aperta ed esame delle piastre. Reinserimento piastre nella giara ed incubazione per altre 24 ore 9.7%
- ◆ Incubazione ininterrotta in giara per 48 ore prima dell'esame 28.1%
- ◆ Incubazione in stazione di lavoro anaerobica per 48 ore prima dell'esame 35.7%

N = 185

Wren, 1977

Distribuzione degli isolamenti anaerobici

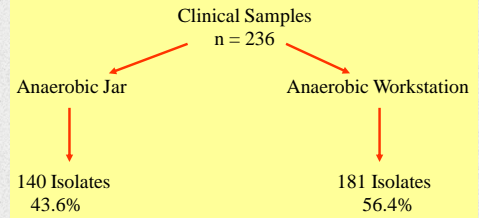
Organismo	"D" Giara	"C" Giara	Workstation
GPAC	16	60	76
<i>Veillonella</i> spp.	0	2	5
<i>Pmelaninogenicus</i>	2	12	14
<i>B.fragilis</i>	8	10	11
<i>B.uniformis</i>	1	0	1
<i>E.corrodens</i>	0	2	1
<i>Fusobacterium</i> spp.	0	1	1
<i>Clostridium</i> spp.	0	1	3
Totale	27	88	122

Conclusioni

“Una incubazione anaerobica ininterrotta per 48 ore aumenta sostanzialmente gli isolamenti di anaerobi”

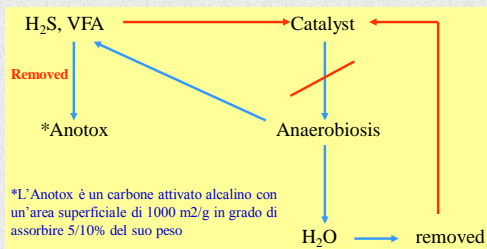
Wren 1977

Una ulteriore ricerca



Sisson *et al.* 1987

Controllo Atmosfera Anaerobica



La storia dell' Anotox™

Comparsa dell' Anotox™, un nuovo agente detossificante dell'atmosfera anaerobica per impiego nelle cappe anaerobiche

Brazier, JS

Journal of Clinical Pathology (1982) 35:233-238

Rilevamento di VFAs nelle giare anaerobiche con sviluppo di *Clostridium sporogenes*

- ◆ Senza Anotox™
 - Evidenziata presenza di acido acetico, propionico, butirrico, isovalerico, valerico e isocaproico
 - Abbondanza di H₂S
- ◆ Con Anotox™
 - Piccolo quantitativo di acido acetico
 - Limitata presenza di H₂S

Controllo Atmosfera Anaerobica

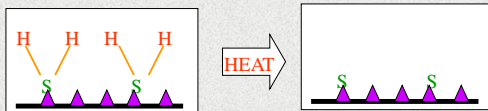
“L’accumulo di prodotti finali del metabolismo batterico nelle giare anaerobiche può raggiungere livelli di tossicità tali da prevenire lo sviluppo superficiale di alcuni significativi anaerobi clinici”

Brazier 1982

Avvelenamento del Catalizzatore

Il catalizzatore freddo incubato in presenza di Anotox conserva la sua completa attività producendo un sostanziale vuoto secondario in soli 5 minuti, mentre il catalizzatore “non protetto” è inattivo

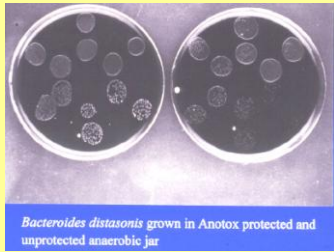
Dopo ripetutata esposizione ad H₂S i siti leganti attivi del palladio sono progressivamente bloccati con lo Zolfo e l’attività catalitica diminuisce gradatamente sino ad avvelenamento irreversibile del catalizzatore, malgrado il riscaldamento



Effetto dell’atmosfera sul conteggio microbico in superficie

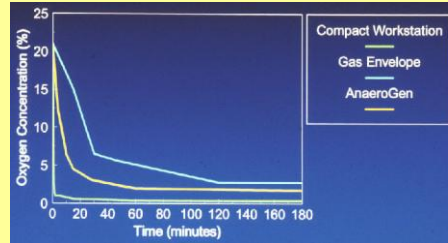
Organismo	Anotox Protetto	Non protetta Giara	Non protetti Jar → Cabinet	Controllo
<i>B.fragilis</i>	6.54	No Growth	5.47	6.30
<i>B.thetaiotaomicron</i>	6.23	No Growth	6.25	6.27
<i>B.capillosis</i>	3.30	No Growth	2.39	3.23
<i>P.anaerobius</i>	5.04	No Growth	2.30	5.11
<i>V.parvula</i>	6.69	No Growth	3.00	6.69
<i>Cl.butyracum</i>	3.00	No Growth	No Growth	3.00
<i>Cl.sordellii</i>	6.11	5.56	5.56	6.17
<i>Cl.perfringens</i>	3.30	3.30	3.30	3.30
<i>Cl.tetani</i>	Growth	No Growth	No Growth	No Growth

Effetto Protettivo di Anotox™



Bacteroides distasonis grown in Anotox protected and unprotected anaerobic jar

Raffronto di metodi per ottenere l'anaerobiosi



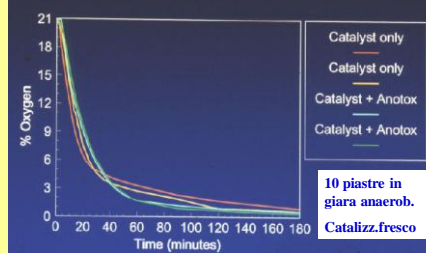
Ulteriori studi DWS

Una ricerca sulle prestazioni della generazione dell'atmosfera anaerobica ed i metodi di detossificazione

Andrew Pridmore & Peter Silley

MB Consult Limited
14 Otley Road, Shipley, West Yorkshire, BD17 7ES

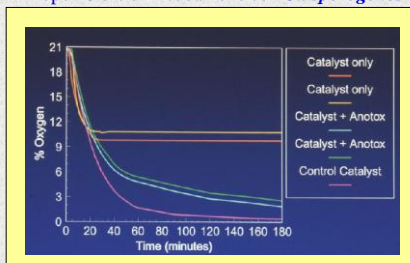
Raggiungimento iniziale dell'anaerobiosi



10 piastre in giara anaerob.
Catalizz.fresco

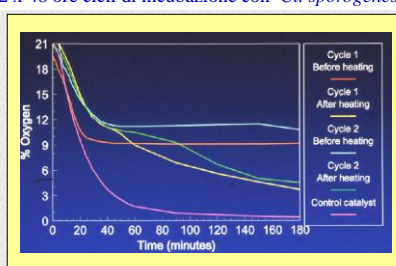
Attività Post-incubazione del catalizzatore

Dopo 48 ore di incubazione con *Cl. sporogenes*



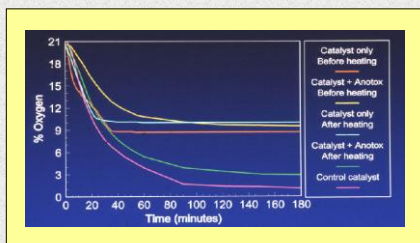
Effetto del riscaldamento e ripetuta incubazione

2 x 48 ore cicli di incubazione con *Cl. sporogenes*



Effetto dell'H₂S sul catalizzatore

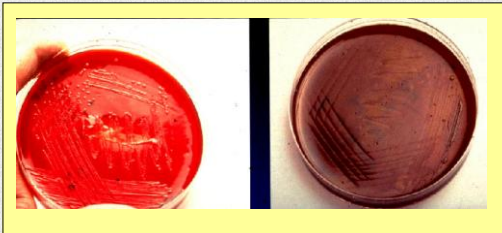
Inserimento 100ml H₂S in giara dopo 48 ore incubazione



Conclusioni

- ◆ È stato dimostrato l'avvelenamento del catalizzatore da parte dei metaboliti e H₂S dopo 1 ciclo di incubazione.
 - >9% ossigeno presente dopo 3 ore
- ◆ Il catalizzatore riacquista dopo riscaldamento solo una attività parziale
- ◆ L'avvelenamento del catalizzatore peggiora dopo ripetuti riscaldamenti
- ◆ L'Anotox™ protegge il catalizzatore
- ◆ L'avvelenamento del catalizzatore è particolarmente significativo in sistemi chiusi
 - Anaerobic jars

Effetto aumento di O₂ sullo sviluppo *B. uniformis*



MINIMA CONCENTRAZIONE INIBENTE

Studio collaborativo europeo sulla riproducibilità dei test quantitativi di sensibilità degli anaerobi

Anna King and Ian Phillips

Department of Microbiology, United Medical & Dental
Schools, St Thomas' Hospital, London SE1 7UH UK

Journal of Antimicrobial Chemotherapy (1988) 21, 425-438

Organismi usati nello studio

♦ <i>B. fragilis</i>	C	♦ <i>P. variabilis</i>	R
♦ <i>B. fragilis</i>	C	♦ <i>P. assacharolyticus</i>	R
♦ <i>B. fragilis</i>	R	♦ <i>P. magnus</i>	R
♦ <i>B. distasonis</i>	C	♦ <i>P. anaerobius</i>	C
♦ <i>B. vulgatus</i>	R	♦ <i>C. perfringens</i>	R
♦ <i>B. thetaiotaomicron</i>	R	♦ <i>C. ramosum</i>	C
♦ <i>B. intermedius</i>	C	♦ <i>C. difficile</i>	C
		♦ <i>C. butyricum</i>	C

C – Isolato clinico

R – Ceppo Riferimento

% risultati MIC accettabili (mode+/- 1) per ogni antibiotico contro tutti I microrganismi

Laboratorio G

Ampicillin	95
Cefoxitin	98
Cefbuperazone	94
Metronidazole	100
Clindamycin	56
Chloramphenicol	100

% risultati MIC accettabili (mode+/- 1) per ogni antibiotico contro tutti I microrganismi

Laboratorio L

Ampicillin	51
Cefoxitin	87
Cefbuperazone	65
Metronidazole	84
Clindamycin	59
Chloramphenicol	48

%% risultati MIC accettabili (mode+/- 1) per ogni antibiotico contro tutti I microrganismi

Laboratorio Q

Ampicillin	99
Cefoxitin	100
Cefbuperazone	100
Metronidazole	100
Clindamycin	100
Chloramphenicol	100

% Totale di risultati accettabili (mode +/-1)

Metronidazole

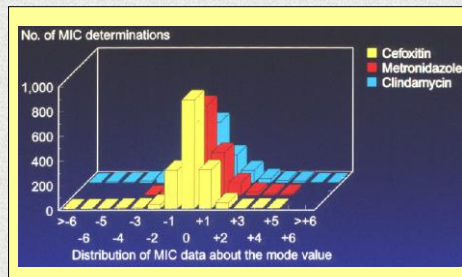
<i>B. fragilis</i>	86	<i>P. variabilis</i>	93
<i>B. fragilis</i>	87	<i>P. magnus</i>	86
<i>B. fragilis</i>	97	<i>P. anaerobius</i>	91
<i>B. distasonis</i>	85	<i>C. perfringens</i>	81
<i>B. vulgatus</i>	87	<i>C. ramosum</i>	100
<i>B. thetaiotaomicron</i>	76	<i>C. difficile</i>	87
<i>B. intermedius</i>	79	<i>C. butyricum</i>	92
<i>P. asaccharolyticus</i>	83		

% Totale di risultati accettabili (mode +/-1)

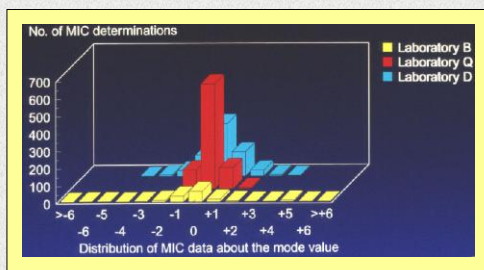
Clindamycin

<i>B. fragilis</i>	75	<i>P. variabilis</i>	85
<i>B. fragilis</i>	59	<i>P. magnus</i>	79
<i>B. fragilis</i>	80	<i>P. anaerobius</i>	63
<i>B. distasonis</i>	46	<i>C. perfringens</i>	85
<i>B. vulgatus</i>	76	<i>C. ramosum</i>	86
<i>B. thetaiotaomicron</i>	86	<i>C. difficile</i>	58
<i>B. intermedius</i>	78	<i>C. butyricum</i>	72
<i>P. asaccharolyticus</i>	91		

Distribuzione MICs per 3 antibiotici

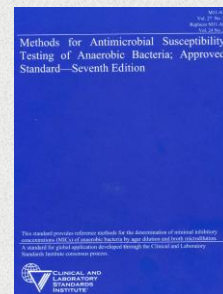


Distribuzione MICs per singolo laboratorio



“CLSI” Metodologia MIC

- ◆ Il documento CLSI M11-A7 descrive i metodi per la sensibilità degli anaerobi agli antibiotici



“CLSI” Test di Sensibilità

- ◆ M11-A7 contiene passo passo la guida al test di sensibilità, compreso il numero e la specie di organismi da testare, con quale frequenza e scelta degli antibiotici più appropriati
- ◆ Sono inoltre incluse le foto a colori delle piastre che presentano l'end-point delle microdiluzioni sia in agar che in brodo
- ◆ Il Protocollo serve quale standard per possibile comparazione con altri metodi

Standardizzazione

- ◆ Quale risultato di studi di standardizzazione e correlazione, si possono adottare sia il metodo di diluzione in agar o di microdiluzione in brodo
- ◆ Benchè la microdiluzione in brodo sia largamente usata, ci sono limitazioni che riguardano il limitato sviluppo, dovuto almeno in parte, ad una eccessiva esposizione all'ossigeno durante la manipolazione
- ◆ Il CLSI raccomanda la microdiluzione in brodo per il gruppo dei *B. fragilis*, per quanto siano disponibili panel di brodi commerciali approvati dalla FDA per gli anaerobi in generale che possono funzionare bene per alcune specie di batteri non del gruppo *B. fragilis*

Hecht *et al.* (1995) *Clinical Infectious Diseases* 20:S342-5

Controllo di Qualità

- ◆ A seguito dei problemi associati all' *Eubacterium lentum* ATCC® 43055, il gruppo di lavoro degli anaerobi della “CLSI” indica un nuovo ceppo di QC da usare per testare gli agenti attivi contro gli anaerobi Gram-positivi
 - *Clostridium difficile* ATCC® 700057 è un ceppo non tossigeno che comprende per la tecnica di diluzione in agar 23 antimicrobici
 - Il Gruppo di lavoro prevede di mettere a punto test per altri antimicrobici, sia in agar che per microdiluzione in brodo

MIC Test & *Clostridium* spp.

- ◆ Coinvolto nello studiare gli effetti di residui di antibiotici sulla popolazione microbica della gola umana sin dal 1992
- ◆ *Clostridium* spp ha dimostrato la più grande variabilità in MICs rispetto a tutti gli altri generi analizzati
- ◆ Rispecchia quanto riportato da King & Phillips (1988) in uno Studio Collaborativo Europeo

Effetto della densità di inoculum su cefuroxime MIC vs *Clostridium* spp secondo il metodo di riferimento con diluizione in agar del NCCLS

Organismi	No. Ceppi usati	Media Geometrica MIC (µg/ml)		
		10 ⁵	10 ⁷	10 ⁹
<i>Clostridium</i> spp.	10	4.0	29.9	64.0

Effetto del tempo di incubazione su ufc/ml di *Clostridium* spp. A 37°C in Wilkins-Chalgren Broth

Organismi		cfu/ml Dopo 16 ore	cfu/ml Dopo 24 ore
<i>Clostridium difficile</i> 0133		7.07 x 10 ⁸	3.51 x 10 ⁶
<i>Clostridium difficile</i> 0260		3.84 x 10 ⁸	8.10 x 10 ⁵
<i>Clostridium difficile</i> 0182		2.40 x 10 ⁸	5.40 x 10 ⁵
<i>Clostridium difficile</i> 0183		1.44 x 10 ⁸	1.08 x 10 ⁶
<i>Clostridium perfringens</i> 0134		2.14 x 10 ⁸	5.40 x 10 ⁵
<i>Clostridium sporogenes</i> 0131		3.43 x 10 ⁸	1.08 x 10 ⁵

Conteggio microbico di colture di *Clostridium* spp. incubate per 16h in Wilkins-Chalgren Broth & standardizzate a 0.5 McFarland Standard

Organismi	TVC (cfu/ml) Overnight	TVC (cfu/ml) 0.5 McFarland
<i>Clostridium difficile</i> 0182	2.4 x 10 ⁸	2.4 x 10 ⁴
<i>Clostridium difficile</i> 0183	1.4 x 10 ⁸	3.2 x 10 ⁴
<i>Clostridium difficile</i> 0260	3.8 x 10 ⁸	6.2 x 10 ⁴
<i>Clostridium difficile</i> 0133	7.1 x 10 ⁸	2.8 x 10 ⁶
<i>Clostridium paraputrificans</i> 0261	2.5 x 10 ⁸	1.8 x 10 ⁶
<i>Clostridium perfringens</i> 0263	1.9 x 10 ⁸	1.3 x 10 ⁷
<i>Clostridium perfringens</i> 0134	2.1 x 10 ⁸	5.4 x 10 ³
<i>Clostridium sporogenes</i> 0130	2.3 x 10 ⁸	9.6 x 10 ⁵
<i>Clostridium sporogenes</i> 0131	3.4 x 10 ⁸	8.3 x 10 ⁴

Conclusioni

- ◆ In uno studio collaborativo europeo King & Phillips (1988) hanno considerato lo "swarming" dei *clostridia* in parte responsabile della variabilità dei test di MCI dei clostridi
- ◆ Noi riteniamo che la densità dell' inoculum debba essere ugualmente, se non di più, un importante fattore da considerare
- ◆ Nel preparare gli inoculum di *Clostridium* spp., suggeriamo inoltre che si debba dare importanza alla riduzione del tempo di incubazione delle brodo colture ad una notte

Quale importanza ha la esposizione all'ossigeno?

Studi recenti DWS

Effetti morfologici e fisiologici dell'esposizione all'ossigeno di batteri anaerobi obbligati

Andrew Pridmore^{1,2}, Peter Silley¹, Deidre Devine² & Bill Bonass²

¹Don Whitley Scientific Limited
14 Otley Road,
Shipley,
West Yorkshire,
BD17 7ES

²Division of Oral Biology
Leeds Dental Institute
University of Leeds
Clarendon Way
Leeds, LS2 9LU

Obiettivi

- ◆ Valutare batteri anaerobi obbligati per la tolleranza all'ossigeno, mediante un innovativo riproducibile sistema
- ◆ Determinare gli effetti fenotipici, metabolici e molecolari in relazione all'aumento di ossigeno in anaerobi obbligati
- ◆ Determinare come le risposte all'ossigeno influenzano la potenziale virulenza ed interazioni con l'ospite

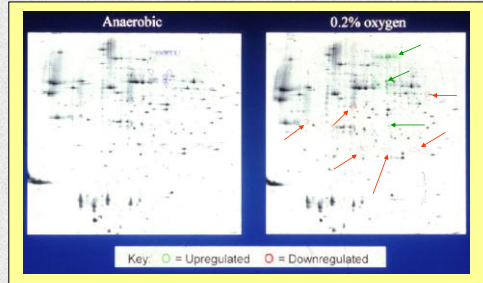
Massima concentrazione di ossigeno compatibile con lo sviluppo superficiale

- ◆ 0.2%
 - *Clostridium sporogenes* (3/5), *Prevotella nigrescens* (2/5), *Prevotella corporis* (1/5)
- ◆ 0.5%
 - *C. sporogenes* (1/5), *Prevotella intermedia* (4/5), *P. nigrescens* (3/5), *P. corporis* (3/5), *Porphyromonas gingivalis*
- ◆ 1.0%
 - *C. sporogenes* (1/5), *P. intermedia* (1/5), *P. corporis* (1/5), *Bacteroides fragilis* (2/5)
- ◆ 2.0%
 - *B. fragilis* (3/5), *Clostridium perfringens* (4/5)

Effetti morfologici di esposizione all'ossigeno

- ◆ Aumento in lunghezza della cellula (x2 to x20)
 - *C. sporogenes*, *C. perfringens*, *P. intermedia*, *B. fragilis*
- ◆ Aumento in lunghezza della cellula (x2 o meno)
 - *C. perfringens*, *P. intermedia*
- ◆ Diminuzione generalizzata dimensioni della cellula
 - *B. fragilis* (1 strain)
- ◆ Proporzionamento aumentata di cellule G-ve
 - *C. sporogenes*, *C. perfringens*
- ◆ Aumento del materiale extra cellulare
 - *P. intermedia*, *P. nigrescens*

Raffronto dei profili di proteina 2D da cellule di *P. gingivalis* stressate in condizioni anaerobiche (large gels)



Sommario

- ◆ La tolleranza all'ossigeno dei batteri anaerobi obbligati presenta considerevoli variazioni sia nella stessa specie che in specie differenti
- ◆ L'esposizione all'ossigeno può indurre effetti morfologici che sono riproducibili ma inconsistenti all'interno di una stessa specie
- ◆ Alterazioni metaboliche in *P. gingivalis* sono rapidamente dimostrabili in presenza di ossigeno ed includono una riduzione della attività enzimatica proteolitica significativa per la virulenza
- ◆ In risposta allo stress da ossigeno, è stata dimostrata una regolazione in tutte le direzioni delle proteine cellulari del *P. gingivalis*

Gli Anaerobi di Importanza Clinica

Gli Anaerobi di Importanza Clinica

I Clinici usano queste informazioni per centrare la terapia e per tenere sotto controllo I progressi dei pazienti

I Microbiologi la usano per determinare le procedure di isolamento ed identificazione più idonee

Di regola, gli organismi di più grande importanza sono quelli più virulenti e/o più resistenti agli agenti antimicrobici utilizzati in terapia per le infezioni anaerobiche o miste

Finegold (1995) Clinical Infectious Diseases

Sébald (1995) Anaerobe 1:11-16

“Dobbiamo ammettere che noi conosciamo solo una piccola parte dei meccanismi di tossicità dell’ossigeno sugli stretti anaerobi dal tempo di Pasteur. Una migliore comprensione di questi meccanismi non dovrebbe essere solo di interesse accademico, ma anche per determinare un miglioramento delle tecniche adottate per il trasporto e la moltiplicazione, una migliore comprensione dei meccanismi di protezione per l’uomo e gli animali nella lotta agli anaerobi patogeni.”

Anaerobiosi stagnante?

“Al fine di prevenire una stagnazione e declino della scienza anaerobica, I microbiologi che si dedicano alla anaerobiosi dovrebbero impegnarsi, vigilare ed attivamente operare nell’educazione, formazione, pubblicazioni e ricerca”

Goldstein (1995) Clinical Infectious Diseases 20:S112-6

Infezioni Anaerobiche

“Molto è stato certamente fatto nell’associare le infezioni anaerobiche con siti con una normale popolazione anaerobica. Ma ancora più interessante, molto resta da fare per molte infezioni apparentemente senza ovvie associazioni all’anaerobiosi”

Ian Phillips, April 1979

Resistenza Antimicrobica

A che punto siamo con la resistenza?

- ◆ Negli ultimi anni la resistenza degli anaerobi agli antibiotici è aumentata significativamente
 - Hecht DW. Prevalence of antibiotic resistance in anaerobic bacteria: worrisome developments. *Clin Infect Dis* (2004) 39:92-97
- ◆ La resistenza varia da specie a specie e da ospedale ad ospedale
- ◆ Anche all'interno della stessa specie, la MIC di alcuni particolari agenti della stessa specie può variare significativamente
 - among the various members of the *Bacteroides fragilis* group reported resistance rates include clindamycin 15 to 44%, cefotetan 13 to 94%, cefoxitin 3.5 to 41.5%
 - resistance to the most active drugs such as imipenem, piperacillin-tazobactam, ampicillin-sulbactam & metronidazole is found in occasional strains
 - frequently, the other species in the *B. fragilis* group are more resistant than *B. fragilis* to many antibiotics
- ◆ Variazioni in sensibilità sono sia specie che ospedale-dipendenti

A che punto siamo con la resistenza?

- ◆ Virtualmente tutto il gruppo dei *Bacteroides fragilis* spp. sono resistenti alla penicillina
- ◆ Una significativa resistenza si riscontra in molte altre specie di anaerobi
 - *Prevotella* spp. (penicillin, 50%; clindamycin, 17%; piperacillin, 11%; cefotetan, 6%)
 - *Peptostreptococcus* spp. (clindamycin, 16%)
 - *Clostridium* spp. (clindamycin, 11%; cefotetan, 12%; cefoxitin 14%)
 - *Fusobacterium* spp. (cefizoxime 18%)
- ◆ Altri organismi anaerobi che hanno una intrinseca resistenza comprendono *Sutterella wadsworthensis* & *Bilophila wadsworthia*. Oltre a questi non-*Bacteroides* genera, anche la resistenza alla penicillina può essere comune, ma non è prevedibile

A che punto siamo con la resistenza?

- ◆ Gli attuali antibiogrammi dei batteri anaerobi sono stati raccolti e pubblicati
 - Hecht, Prevalence of antibiotic resistance in anaerobic bacteria: worrisome developments. *Clin Infect Dis* (2004) 39:92-97
- ◆ L'aumento e la prevalenza degli organismi anaerobi sono correlati alla scoperta e caratterizzazione di resistenze multiple e trasferibili

Coinvolgimento Clinico

- ◆ Un importante fatto da considerare è se la resistenza antibiotica evidenziata è correlata ai risultati clinici insoddisfacenti
- ◆ Sino ad oggi, gli studi dimostrano che tale correlazione è limitata
- ◆ I fattori che limitano questi studi comprendono:
 - Natura dell'infezione (mix di aerobi e anaerobi)
 - Mancata identificazione degli anaerobi
 - Mancanza di dati clinici
 - Impiego di inaccurati o modificati test di suscettibilità
 - Effetti di drenaggi chirurgici

Coinvolgimento Clinico

- ◆ Recenti studi sulla *Bacteroides* bacteremia dimostrano chiaramente un aumento della mortalità e persistenza microbiologica nei pazienti che hanno ricevuto una inefficiente terapia in confronto a quelli che hanno ricevuto una corretta terapia
 - Nguyen MH *et al* (2000) *Clin Infect Dis* 30:870-876
 - Salonen *et al* (1998) *Clin Infect Dis* 26:1413-1417
 - Zahar *et al* (2005) *Clin Microbiol Infect* 11:724-729
 - Hung *et al* (2005) *J Microbiol Immunol Infect.* 38:436-443

Clostridium difficile – il futuro?

- ◆ Considerato che il *C. difficile* è stato causa di antimicrobial-associated diarrhea, colitis & pseudomembranous colitis nel 1978, l'interesse per questo patogeno è stato predominantemente per il suo impatto sulla popolazione anziana
- ◆ Ma una esplosione di reports sulle infezioni da *C. difficile* (CDI) ad iniziare dal 2000, ha messo in moto variazioni sulla incidenza della malattia e relativa epidemiologia e fatto prendere in considerazione nuovi fattori di rischio
- ◆ See Freeman *et al* (2010) *Clinical Microbiology Reviews* 23, 529-549

Una Sfida

- ◆ Due punti chiave devono essere chiariti per comprendere la epidemiologia delle infezioni da CDI
 - Primo, per quanto ci sia stato un miglioramento nella sorveglianza delle Infezioni CDI, guidata dal riconoscimento dell'aumento della infezione, l'accertamento della infezione è tuttora differente all'interno e tra la maggioranza delle nazioni

Una Sfida

- ◆ Un secondo impedimento chiave per ottenere dati epidemiologici accurati è il differente approccio diagnostico di laboratorio
 - (bacterium, glutamate dehydrogenase, toxins, toxin genes)
- ◆ Ciò è particolarmente importante nella ricerca del *C. difficile*
- ◆ E' inevitabile che la misura della incidenza della infezione può variare a seconda del metodo adottato dal laboratorio
- ◆ I più comuni metodi di laboratorio adottati per la diagnosi:
 - enzyme immunoassay (EIA) to detect *C. difficile* toxins A and B
 - these tests generally have suboptimal sensitivity and specificity

Come si può controllare?

- ◆ In Inghilterra c'è la obbligatorietà di registrare tutti i casi di CDI di tutti gli ospedali
- ◆ Si è verificata una consistente diminuzione della incidenza della CDI, dal momento della introduzione del piano di sorveglianza nel 2007 con la centralizzazione per un rapido accesso al "ribotyping"
- ◆ Dal 2008 al 2009, sono stati testati 4,682 campioni
 - ribotypes are therefore known for approx 1 in 8 to 9 of all CDI cases in England
- ◆ I più comuni identificati "ribotypes" sono stati in England :
 - ribotypes 027 (36%), 106 (13%), & 001 (7%)
 - 19% decrease in the prevalence of ribotype 027 since 2007/08

Come si può controllare?

- ◆ Degli 8 più comuni ribotypes che si hanno un Europa, 6 sono stati quelli più importanti in UK dal 2008 al 2009 (eccezione per ribotypes 012 e 018)
- ◆ Il Ribotype 106 è quello predominante in UK, ma raramente da altre parti!
- ◆ Solo il ribotype 027 è significativamente indipendentemente associato alla mortalità
- ◆ Si è avuta una quadruplicazione delle morti certificate per *C. difficile* in England & Wales tra il 2004 e 2007, mentre si è avuta una diminuzione del 29% nel 2008
 - successful control of ribotype 027 is likely to explain marked reduction in CDI-related deaths

Da dove proviene?

- ◆ Per quanto il *C. difficile* sia un microrganismo ubiquitario che si può trovare nell'ambiente, animali e alimenti, la sua prevalenza è nel settore della salute pubblica e per lungo tempo si è pensato che la sua infezione avveniva quasi esclusivamente durante un periodo di permanenza in tale ambiente
- ◆ L'alta incidenza del CDI è probabilmente da associare alla alta densità di individui nei locali, con pazienti anziani e con co-morbidità
- ◆ E' stato comunque riscontrato che c'è un aumento dei casi di infezione CDI al di fuori degli ambienti ospedalieri
- ◆ Studi hanno messo in evidenza in varie proporzioni casi di CDI causati da comunità

Fattori di Rischio

- ◆ Una precedente esposizione ad antimicrobici è il principale fattore di rischio per lo svilupparsi della CDI.
- ◆ In generale, antimicrobici ad ampio spettro come cephalosporins & clindamycin sono gli antibiotici più frequentemente implicati, mentre il ruolo di FQs è meno chiaro
- ◆ L'aumento del tempo di ospedalizzazione ed il numero di ammissioni in ospedale continuano ad essere considerati fattori di rischio per il CDI
- ◆ Gastric Acid Suppressants? Animali e Alimenti?

C'è ancora tanto da imparare!!

