

# **RACCOMANDAZIONI PER IL CONTROLLO DELLE INFEZIONI NEI PAZIENTI CON FIBROSI CISTICA: MICROBIOLOGIA, PATOGENI RILEVANTI E PRATICHE DI CONTROLLO DELLE INFEZIONI PER PREVENIRE LA TRASMISSIONE DA PAZIENTE A PAZIENTE**

Traduzione del testo, pubblicato sull'**American Journal of Infection Control 2003; 31 (Suppl. May 2003): S1-S62**. (Titolo originale: *Infection control recommendations for patients with cystic fibrosis: Microbiology, important pathogens, and infection control practices to prevent patient-to-patient transmission*. Autori: *Lisa Saiman, MD, MPH, Jane Siegel, MD, and the Cystic Fibrosis Foundation Consensus Conference on Infection Control Participants*).

Traduzione a cura di:

Cesare Braggion, Antonella Caruso,  
Filippo Festini, Daniela Fazio,  
Marilù Furnari, Daniela Liberato,  
Maria Cristina Lucanto,  
Eros Manoni,  
Donatello Salvatore, Francesca Soraci, Giuseppe Vieni

con la consulenza di Flavio Favari

Questa traduzione è a disposizione degli operatori sanitari, che operano nei Centri e Servizi di Supporto per la Fibrosi Cistica, e di quanti parteciperanno al Convegno “Strumenti e Pratiche per Migliorare le Cure nella Fibrosi Cistica e nelle Malattie Respiratorie Croniche”, organizzato dal Gruppo Italiano di Studio sulla Fibrosi Cistica della S.I.P. e che si terrà a Verona, Centro Marani, il 13 Novembre 2003. Non rappresenta un documento ufficiale, né un riferimento per l’attuazione delle misure di prevenzione e controllo delle infezioni “crociate” nei Centri. Esso è piuttosto uno strumento di lavoro, che ha lo scopo di facilitare il confronto e la riflessione multidisciplinare su un tema di rilievo per le implicazioni organizzative e l’impatto psicosociale sui pazienti e famiglie. Questa traduzione riguarda un documento di consenso, a forte contenuto tecnico e scientifico, e pertanto non è adatta per una consultazione da parte dei pazienti e loro familiari. Questo testo rappresenta il riferimento per la verifica di apprendimento al fine di ottenere i crediti ECM per il Convegno sopra indicato.

Il testo di questa traduzione può essere scaricato dall' area riservata agli operatori sanitari del sito [www.fibrosicistica.it](http://www.fibrosicistica.it).

Può anche essere richiesta a Cesare Braggion (email: [cbraggion@qubisoft.it](mailto:cbraggion@qubisoft.it)) oppure a Filippo Festini (email: [filippo.festini@iol.it](mailto:filippo.festini@iol.it)) che provvederanno ad inviarla per posta elettronica.

## INDICE

ABBREVIAZIONI USATE NEL TESTO.....	4
SOMMARIO.....	5
I. SVILUPPO DEL DOCUMENTO.....	9
A. Razionale del documento.....	9
B. Partecipanti.....	9
C. Obiettivi del documento.....	10
II. INFORMAZIONI DI BASE.....	11
A. Principi generali del controllo delle infezioni.....	11
1. Linee-guida esistenti per il controllo delle infezioni, applicabili ai pazienti con CF.....	11
2. Documenti di consenso sul controllo delle infezioni utilizzati in altri paesi.....	15
3. Superare le barriere all'adesione alle linee-guida per il controllo delle infezioni.....	15
B. Metodologie per la microbiologia, la tipizzazione molecolare e la sorveglianza.....	16
1. Introduzione.....	16
2. Sintesi sull'epidemiologia dei patogeni nei pazienti con CF.....	16
3. Uso di terreni selettivi per l'isolamento dei patogeni nei pazienti con CF.....	18
4. Tests di sensibilità agli antimicrobici.....	20
5. Tecniche di epidemiologia molecolare per la tipizzazione di ceppi batterici isolati in CF.....	20
6. Sorveglianza da parte del team CF e del team del controllo delle infezioni.....	22
7. Uso degli antibiotici nei pazienti con CF.....	23
C. Alcuni patogeni rilevanti per i pazienti con CF e la loro epidemiologia.....	24
1. <i>S. aureus</i> , compreso MRSA.....	24
2. <i>P. aeruginosa</i> .....	26
3. <i>B. cepacia</i> complex.....	31
4. Patogeni emergenti.....	36
5. Funghi e muffe.....	40
6. Virus respiratori.....	41
D. Soggetti che hanno ricevuto trapianto di polmoni o trapianto cuore-polmoni.....	43
1. <i>B. cepacia</i> complex nei pazienti CF trapiantati.....	43
2. <i>Pseudomonas</i> ed altri patogeni nei pazienti CF trapiantati.....	44
3. Aspergilloso invasivo in pazienti CF trapiantati.....	44
4. Sintesi sulla trasmissione di patogeni dopo il trapianto nei pazienti CF.....	45
E. Implicazioni psicosociali delle linee-guida per il controllo delle infezioni.....	45
1. Studi in pazienti CF.....	45
2. Studi in pazienti non-CF.....	46
3. Interventi per minimizzare l'impatto delle <i>precauzioni di isolamento</i> .....	46
4. Attività sociali ed educazionali organizzate per i pazienti con CF.....	47
5. Sommario delle implicazioni psicosociali delle linee-guida sul controllo delle infezioni.....	47
F. Gli operatori sanitari affetti da CF.....	47
III. RACCOMANDAZIONI PER LE LINEE-GUIDA SUL CONTROLLO DELLE INFEZIONI PER I PAZIENTI CON CF.....	49
A. Classificazione delle evidenze.....	49
B. Applicabilità delle <i>precauzioni standard</i> e delle <i>precauzioni basate sulla trasmissibilità</i> ai pazienti CF nelle strutture sanitarie.....	49
1. Principi generali per le strutture sanitarie.....	49
2. Uso di specifiche precauzioni di barriera.....	50
3. Controllo delle infezioni ambientali.....	51
C. Microbiologia, tipizzazione molecolare e sorveglianza.....	53
1. Eseguire colture delle vie respiratorie nei pazienti con CF.....	53
2. Lavorazione dei campioni biologici derivati dalle vie respiratorie.....	53
3. Uso di terreni selettivi.....	54
4. Test di sensibilità agli antimicrobici.....	54
5. Altri test per la diagnosi e l'identificazione.....	54

6.	Utilizzo del <i>B. cepacia</i> Research Laboratory and Repository della CFF.....	54
7.	Strategie di sorveglianza.....	55
8.	Tipizzazione molecolare.....	55
D.	Ambienti di degenza.....	55
1.	Precauzioni per la trasmissione.....	55
2.	Sistemazione nelle stanze.....	56
3.	Attività dei pazienti al di fuori della stanza di degenza.....	56
4.	Terapia respiratoria.....	57
E.	Ambienti ambulatoriali.....	57
1.	Logistica dell' ambulatorio.....	57
2.	Comportamento nell'area di attesa.....	57
3.	Situazioni specifiche relative ai vari microorganismi .....	58
4.	Misure aggiuntive per prevenire le infezioni respiratorie.....	58
F.	Ambienti non sanitari.....	59
1.	Famiglia in cui sono presenti più persone con CF.....	59
2.	Cura delle ampole per aerosol e degli altri presidi terapeutici al domicilio.....	59
3.	Campi scuola specifici per ragazzi CF ed altre iniziative educative che prevedano pernottamento.....	60
4.	Scuola.....	60
5.	Iniziative educative/divulgative per le famiglie e feste per la raccolta fondi.....	60
6.	Cantieri edili, ristrutturazioni, giardinaggio, taglio dei prati.....	60
7.	Piscine, bagni termali, idromassaggi, usati da pazienti CF.....	60
G.	Impatto psicosociale delle linee-guida sul controllo delle infezioni.....	61
H.	Operatori sanitari con CF.....	61
IV.	DIFFUSIONE DELLE LINEE GUIDA PER IL CONTROLLO DELLE INFEZIONI NELLA CF ED ASPETTI EDUCAZIONALI .....	63
A.	Misure per raggiungere una duratura aderenza alle linee-guida per il controllo delle infezioni	63
B.	Educazione dei pazienti, delle loro famiglie e degli operatori sanitari.....	63
C.	Approvazione da parte dell'American Society of Microbiology.....	64
V.	PROPOSTE DI PROGETTI DI RICERCA.....	65
A.	Fattori dell'ospite.....	65
B.	Patogeni nei pazienti con CF.....	65
C.	Ruolo degli agenti antimicrobici.....	65
D.	Ambiente.....	65
E.	Operatori sanitari affetti da CF.....	65
F.	Pratiche di controllo delle infezioni.....	66
	GLOSSARIO.....	67
	RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI.....	72

## ABBREVIAZIONI USATE NEL TESTO

ABPA	: Aspergillosi broncopolmonare allergica;
AFB	: bacilli alcool-acido resistenti;
ATS	: American Thoracic Society;
BCSA	: agar selettivo per <i>Burkholderia cepacia</i> ;
CF	: fibrosi cistica;
CFF	: Cystic Fibrosis Foundation;
CFU	: unità formanti colonie;
FEV <sub>1</sub>	: volume espiratorio forzato nel primo secondo;
HEPA	: filtro ad alta efficienza per particelle sospese nell'aria;
HICPAC	: Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee;
HIV	: virus dell'immunodeficit nell'uomo;
ICU	: unità di cure intensive;
IL-8	: interleuchina 8;
LPS	: lipopolisaccaridi;
MAC	: <i>Mycobacterium avium</i> complex;
MAI	: <i>Mycobacterium avium-intracellulare</i> ;
MDRO	: organismo multi-resistente ai farmaci;
MMWR	: <i>Morbidity and Mortality Weekly Report</i> ;
MRSA	: <i>Staphylococcus aureus</i> resistente alla meticillina;
MSSA	: <i>Staphylococcus aureus</i> sensibile alla meticillina;
NALC-NaOH	: N-acetil-L-cisteina e idrossido di sodio;
NTM	: micobatteri non tubercolari;
OFPBL	: agar ossidativo e fermentativo con lattosio ed a base di polimixina B e bacitracina;
PFGE	: elettroforesi su gel a campo pulsato;
PC	: agar selettivo per <i>Pseudomonas cepacia</i> ;
RFLP	: polimorfismo "a restrizione di un segmento";
RSV	: virus sinciziale respiratorio;
VRE	: enterococchi resistenti alla vancomicina.

# **RACCOMANDAZIONI PER IL CONTROLLO DELLE INFEZIONI NEI PAZIENTI CON FIBROSI CISTICA: MICROBIOLOGIA, PATOGENI RILEVANTI E PRATICHE DI CONTROLLO DELLE INFEZIONI PER PREVENIRE LA TRASMISSIONE DA PAZIENTE A PAZIENTE**

**Lisa Saiman, MD, MPH**

Università Columbia, Dipartimento di Pediatria, New York, New York;

**Jane Siegel, MD**

Università del Texas ‘Centro Medico del Sud-Ovest’, Dipartimento di Pediatria, Dallas, Texas;

**Convegno di Consenso della Cystic Fibrosis Foundation sul Controllo delle infezioni**

Richieste di ristampa: Cystic Fibrosis Foundation, 6931 Arlington Road, Bethesda, Maryland 20814; Tel 800-Fight-CF;

Web site: [www.info@cff.org](http://www.info@cff.org)

## **SOMMARIO**

Questo documento aggiorna, espande e sostituisce il documento di consenso ‘Microbiologia e Malattie infettive nella Fibrosi Cistica’ (*Microbiology and Infectious Disease in Cystic Fibrosis*), pubblicato nel 1994 (1). Questo documento di consenso presenta informazioni di base e raccomandazioni basate sull’evidenza, specifiche per i pazienti con CF, per le pratiche finalizzate a ridurre il rischio di trasmissione dei patogeni respiratori, che contaminano gli strumenti utilizzati per la terapia respiratoria o l’ambiente: ciò riduce il rischio di malattia respiratoria. Sono incluse raccomandazioni applicabili nelle corsie ospedaliere, nell’ambulatorio, nel domicilio ed in alcune circostanze di tipo non sanitario. Il documento è rivolto a tutti gli operatori sanitari coinvolti nelle cure dei pazienti con CF. Il trattamento antimicrobico va oltre lo scopo di questo documento.

Le seguenti informazioni rappresentano la base per lo sviluppo di queste linee-guida:

- a) Gli studi pubblicati dopo il 1994, che fanno progredire la nostra conoscenza sulle modalità di trasmissione dei patogeni e sulle strategie efficaci per evitare la loro trasmissione nei pazienti con CF, rappresentano la fonte di dati per la stesura di linee-guida basate sull’evidenza.
- b) Il miglioramento dei metodi microbiologici mette a disposizione una più accurata capacità di identificazione dei patogeni ed una ulteriore definizione dell’epidemiologia dei patogeni nei pazienti con CF.
- c) La pubblicazione nel 1996 delle ‘Linee -guida per le precauzioni di isolamento negli ospedali’ (*Guideline for Isolation Precautions in Hospitals*) dell’HICPAC/CDC (Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee/Centers for Disease Control and Prevention) ha definito le *precauzioni standard* ed ha raccomandato la loro universale applicazione per la cura di ogni paziente ed in ogni circostanza allo scopo di prevenire la trasmissione di agenti infettivi, che possono essere stati non ancora identificati (2).
- d) Le linee-guida sulla prevenzione delle infezioni associate alle cure dell’HICPAC/CDC, precedentemente pubblicate, non hanno incluso informazioni di base e raccomandazioni specifiche per i pazienti con CF. Pertanto sono necessarie specifiche linee-guida rivolte ai pazienti con CF.
- e) E’ ben stabilito il legame tra acquisizione di patogeni e morbilità e mortalità. La prevenzione dell’acquisizione di specifici patogeni può ulteriormente migliorare la sopravvivenza media dei pazienti con CF, che è aumentata a 33.4 anni nel 2001 (3-9).

Un comitato multidisciplinare, costituito da operatori sanitari degli Stati Uniti, Canada ed Europa con esperienza nelle cure della CF e nel controllo delle infezioni ed epidemiologia sanitaria, ha valutato la letteratura più rilevante e sviluppato raccomandazioni basate sull'evidenza, che sono state graduate sulla base di una classificazione pubblicata. I partecipanti hanno scelto di utilizzare la seguente classificazione del CDC/HICPAC per categorizzare le raccomandazioni, basata su precedente esperienza acquisita nel controllo delle infezioni in non-CF:

- **Categoria IA.** Fortemente raccomandata per l'implementazione e ben supportata da studi sperimentali, clinici o epidemiologici con buon disegno.
- **Categoria IB.** Fortemente raccomandata per l'implementazione e supportata da qualche studio sperimentale, clinico o epidemiologico e da un razionale teorico "forte".
- **Categoria IC.** Obbligatoria per l'implementazione, poiché stabilita da legislazione o standard federali o statali.
- **Categoria II.** Consigliata per l'implementazione e supportata da studi clinici o epidemiologici non conclusivi o da un razionale teorico.
- **Nessuna raccomandazione, problema aperto.** Pratiche per le quali non vi sono sufficienti evidenze o non è stato raggiunto consenso riguardo l'efficacia.

Le raccomandazioni di *Categoria IA* ed *IB* sono fortemente raccomandate per l'implementazione nei Centri CF e considerate rappresentare una "best practice". L'implementazione delle raccomandazioni di *Categoria II* è consigliata dal comitato, ma i Centri possono individualmente scegliere e determinare quali sono le più appropriate da applicare alla propria realtà.

Questo documento integra le conoscenze sui metodi del laboratorio di microbiologia, i principi di controllo delle infezioni e l'epidemiologia dei patogeni respiratori nei pazienti con CF. La standardizzazione delle pratiche di controllo delle infezioni nei Centri CF contribuirà ad un ambiente più sicuro per i pazienti riducendo il rischio di trasmissione dei patogeni. Congiuntamente alle pratiche generali di controllo delle infezioni, che sono applicabili a tutti i pazienti con CF ed in ogni circostanza, sono raccomandate delle specifiche pratiche di controllo delle infezioni per il paziente ricoverato, per il paziente in ambulatorio e per altre circostanze non sanitarie, sulla base dei tipi di attività e dei rischi associati a questi diversi settings. Il team degli operatori dedicati alle cure della CF, così come i pazienti e le loro famiglie devono essere educati a conoscere i rischi noti e le misure preventive efficaci, in modo che vi sia adesione alle raccomandazioni basate sull'evidenza contenute in questo documento. Sarà utile per ciascun Centro CF valutare l'efficacia del proprio programma di controllo delle infezioni nel ridurre la trasmissione di patogeni e nel migliorare l'andamento clinico. La collaborazione nel Centro CF tra il team degli operatori dedicati alle cure della CF ed il team per il controllo delle infezioni, sarà facilitante per una implementazione efficace delle linee-guida, che consideri l'impatto psicosociale di queste raccomandazioni.

Questo documento è stato rivisto dai membri dell'HICPAC, che hanno trovato le raccomandazioni coerenti con i principi e le linee-guida del controllo delle infezioni per la prevenzione delle infezioni associate alle cure. Queste linee-guida sono state formalmente approvate nel 2002-2003 dai comitati della The Society for Healthcare Epidemiology of America ed Association for Professionals in Infection Control and Epidemiology. Il National Committee for Clinical Laboratory Standards ha approvato le raccomandazioni per i tests di sensibilità agli antibiotici.

## **Principi del controllo delle infezioni**

I patogeni della CF sono trasmessi attraverso le goccioline provenienti dalle vie respiratorie ed il contatto. Perciò le pratiche di contenimento delle secrezioni respiratorie e quelle che prevengono la

trasmissione di patogeni delle vie respiratorie devono essere insegnate ai pazienti e alle loro famiglie, così come agli operatori sanitari coinvolti nelle cure della CF. Tali pratiche devono essere seguite da tutti i pazienti con CF e non possono essere implementate solo per singoli pazienti, categorizzati sulla base dei risultati microbiologici, poiché i metodi microbiologici non sono sensibili al 100% nell'identificare un patogeno tipico della CF (10, 11). Oltre al lavaggio delle mani con un sapone contenente antimicrobici ed acqua, sono ora raccomandati antisettici a base di alcool per la frizione delle mani (vedi glossario) quando le mani non sono visibilmente contaminate con sangue o fluidi corporei, poiché è dimostrata una migliore efficacia di questi prodotti nella rimozione dei microorganismi dalle mani (12, 13). L'uso di camici, guanti e maschere è regolato da raccomandazioni per *precauzioni standard*, *precauzioni per il contatto* e *precauzioni per le goccioline provenienti dalle vie respiratorie* (vedi oltre ed il glossario), sviluppate dall'CDC/HICPAC per prevenire le infezioni associate alle cure in tutti i pazienti, sia con CF che senza CF. Le *precauzioni per il contatto*, congiuntamente alle *precauzioni standard*, sono raccomandate per tutti i pazienti con CF ed infezione (o colonizzazione) da *Staphylococcus aureus* meticillino-resistente (MRSA), *Burkholderia cepacia* complex, *Pseudomonas aeruginosa* multi-resistente agli antibiotici, virus sinciziale respiratorio (RSV), virus parainfluenza o enterococchi resistenti alla vancomicina (VRE). Sono fornite raccomandazioni sulla distribuzione dei pazienti nelle stanze di degenza, sulle attività all'esterno delle stanze di degenza, sulla logistica del Centro CF e su misure aggiuntive per la prevenzione delle infezioni. Non possono essere invece fatte raccomandazioni per un uso routinario delle maschere da parte dei pazienti con CF, quando lasciano la stanza di degenza o sono nella stanza di attesa del Centro.

Le pratiche specifiche raccomandate in questo documento per l'uso e la cura degli strumenti utilizzati per la terapia respiratoria sono basate sui principi di disinfezione e sterilizzazione, così come sui risultati di ricerche che hanno indagato infezioni epidemiche associate a strumenti contaminati (14, 15). Il lavaggio degli strumenti, come le ampole per aerosol, la rimozione di residui eseguita quanto prima e precedente la disinfezione e l'asciugatura completa all'aria rappresentano passaggi critici sia nelle strutture sanitarie che a domicilio.

## **Microbiologia, tipizzazione molecolare e sorveglianza**

Poiché un trattamento antimicrobico aggressivo contro *P. aeruginosa* alla sua iniziale acquisizione può essere associato ad un ritardo nell'infezione cronica e ad un miglior andamento clinico, le colture delle vie respiratorie dovrebbero essere eseguite almeno ogni 3 mesi nei pazienti con CF e situazione polmonare stabile, così come nel momento delle esacerbazioni polmonari (16-18). Sono incluse raccomandazioni specifiche sul trasporto e la lavorazione dei campioni biologici, comprese quelle sull'uso dei terreni selettivi preferibili. Per i tests di sensibilità agli antibiotici nel caso di *P. aeruginosa* sono raccomandati test di diffusione in agar con dischi antibiotati o E-tests, anziché sistemi commerciali di microdiluzione automatica (19-21). La tipizzazione molecolare, che utilizza appropriati metodi, ad esempio l'elettroforesi su gel a campo pulsato (PFGE), la reazione di "polimerizzazione a catena di tipo rapido ed amplificato" (RAPD-PCR), la PCR a sequenza ripetitiva di DNA (Rep-PCR), è raccomandata per valutare l'appartenenza ad un ceppo individuale isolato in pazienti diversi, quando si sospetta la trasmissione da paziente a paziente (22-25).

Sono incluse raccomandazioni per sviluppare una sorveglianza in collaborazione con il team per il controllo delle infezioni del Centro CF. Lo *S. aureus*, incluso lo MRSA, *P. aeruginosa* e *B. cepacia* complex rappresentano sempre oggetto della sorveglianza, mentre lo *Stenotrophomonas maltophilia*, *Achromobacter xylosoxidans* ed i micobatteri non tubercolari (NTM) sono considerati, se giudicati importanti dal punto di vista epidemiologico, ad esempio quando è sospettata la trasmissione da paziente a paziente o un'epidemia. La sorveglianza include il calcolo dell'incidenza e della prevalenza, la valutazione della sensibilità agli antimicrobici e l'analisi del loro trend nel

tempo. Reports annuali su questi dati dovrebbero essere condivisi tra il team di operatori dedicati alle cure della CF ed il team per il controllo delle infezioni, allo scopo di valutare l'efficacia del programma di controllo delle infezioni del Centro. Ceppi selezionati di *B. cepacia* complex e di organismi gram-negativi non fermentanti, che non possono essere identificati come specie dopo una indagine di routine, dovrebbero essere inviati al *B. cepacia* Research Laboratory and Repository della Cystic Fibrosis Foundation per una ulteriore valutazione.

## **Epidemiologia dei patogeni nei pazienti con CF**

Gli studi epidemiologici su *B. cepacia* complex forniscono un modello per valutare altri patogeni. Con l'uso di sistemi di tipizzazione molecolare più avanzati, ad esempio PFGE, RAPD, è stata dimostrata una trasmissione da paziente a paziente negli Stati Uniti, Canada ed Europa; questo sia negli ambienti sanitari che non-sanitari attraverso le goccioline provenienti dalle vie respiratorie ed il contatto, con poca evidenza di una vera trasmissione aerea (26). La trasmissione è stata interrotta con successo implementando una serie di pratiche di controllo delle infezioni che sono basate sul principio del contenimento delle secrezioni delle vie respiratorie. Sebbene siano stati identificati dei fattori di virulenza putativi nel più comune genomovar III, non è stato ancora identificato un fattore da considerarsi marker di trasmissibilità (22, 27). La dimostrazione del rimpiazzo di *Burkholderia multivorans* con ceppi del genomovar III potenzialmente più virulenti supporta la raccomandazione di mantenere una segregazione anche tra pazienti infetti da *B. cepacia* complex e non di considerarli nell'insieme una coorte, sia per quanto riguarda la degenza ospedaliera che l'ambulatorio (28-30).

Una trasmissione da paziente a paziente di *P. aeruginosa* è stata dimostrata in diversi studi che riguardavano pazienti ambulatoriali, ma non è consistente come per il *B. cepacia* complex (17, 31-37). Condizioni di affollamento, di stretto contatto e non osservanza dell'igiene delle mani e di altre pratiche igieniche, facilitano la trasmissione. L'implementazione di misure per il controllo delle infezioni può prevenire la trasmissione di *P. aeruginosa* ai pazienti con CF. Non è stato stabilito il ruolo di fonti ambientali di acqua per la *P. aeruginosa*.

Una trasmissione da paziente a paziente di *S. aureus* (incluso lo MRSA) si verifica tra pazienti con CF e richiede perciò aderenza alle politiche ospedaliere di prevenzione della trasmissione dello MRSA tra i pazienti con CF. In modo simile, poiché le infezioni virali delle vie aeree sono associate nei pazienti con CF a deterioramento clinico, devono essere usati metodi per la prevenzione delle infezioni respiratorie virali nella popolazione generale, ad esempio *precauzioni standard* associate alle *precauzioni per il contatto* e/o alle *precauzioni per le goccioline provenienti dalle vie respiratorie*, vaccini anti-influenzali ed agenti antivirali per il trattamento e la profilassi. L'impatto clinico e l'epidemiologia di *S. maltophilia*, *A. xylosoxidans* e NMT devono ancora essere definiti. Tuttavia, studi recenti suggeriscono che le misure per il controllo delle infezioni per prevenire la trasmissione di *S. maltophilia* e *A. xylosoxidans* sono benefiche (38-40). In contrasto, il rischio di trasmissione da paziente a paziente di NTM ed *Aspergillus* spp. è veramente basso. Benchè l'*Aspergillus* spp. sia ubiquitario in natura, è meglio evitare una prolungata esposizione ad un'alta concentrazione di spore di *Aspergillus*, ad esempio attraverso le polveri da costruzione e perdite di acqua prosciugate. E' importante verificare che siano attuate le politiche raccomandate per il contenimento delle polveri e delle perdite di acqua negli ambienti deputati alle cure dei pazienti con CF.

Infine, sono riportate le raccomandazioni basate sui principi sopra menzionati di controllo delle infezioni e sull'epidemiologia dei patogeni nei pazienti con CF al fine di facilitare i pazienti e le loro famiglie nel prendere decisioni negli ambienti non-sanitari, come ad esempio il domicilio e la scuola, programmi educazionali e di supporto psicosociale per la CF, uso delle piscine e di vasche per idromassaggio e nella selezione e la pratica di professioni sanitarie.



## **PARTE I. SVILUPPO DEL DOCUMENTO**

### **A. RAZIONALE DEL DOCUMENTO**

Durante gli ultimi due decenni è stata documentata con crescente frequenza una trasmissione di patogeni da paziente a paziente. Ne è derivato lo sviluppo di politiche di controllo delle infezioni all'interno dei singoli Centri allo scopo di prevenire la trasmissione di agenti infettivi tra i pazienti. Tuttavia le politiche variano da Centro a Centro. Queste differenze possono generare controversie ed ansia tra i membri della comunità della CF, che include i pazienti, le loro famiglie ed il loro team sanitario, specie se le cure sono ricevute in strutture diverse, che adottano pratiche diverse. Inoltre vi sono stati molteplici cambiamenti nell'epidemiologia della CF e nell'erogazione delle cure per la malattia. Molti stati hanno istituito uno screening neonatale per la CF con lo scopo di migliorare la prognosi attraverso l'avvio più precoce delle cure, incluse le misure di prevenzione. La sopravvivenza mediana di un paziente è aumentata fino a 33.4 anni nel 2001 e circa il 37% dei pazienti hanno un'età maggiore di 18 anni (3-9). Molti Centri CF hanno strutture separate per l'età pediatrica e per l'età adulta. L'epidemiologia dei patogeni delle vie respiratorie è diventata più complessa. Mentre *S. aureus*, *Haemophilus influenzae* e *P. aeruginosa* rimangono i patogeni più comuni, *B. cepacia* complex, *S. maltophilia*, *A. xylosoxidans*, *Aspergillus* spp., NTM e virus respiratori sono isolati dai pazienti con CF e sono clinicamente significativi. Spesso i pazienti sono esposti a numerosi antimicrobici a largo spettro, somministrati per via orale, per via aerosolica e per via endovenosa. Molti di questi agenti sono somministrati a domicilio con l'obiettivo di preservare la funzione polmonare e ridurre la frequenza e la durata delle ospedalizzazioni. Tuttavia questa frequente esposizione agli antimicrobici può condurre ad aumentare la resistenza dei germi agli antibiotici e potenzialmente all'emergenza di organismi multi-resistenti ai farmaci (MDRO).

Nel 1994 la Cystic Fibrosis Foundation (CFF) ha pubblicato le raccomandazioni relative alle pratiche per il controllo delle infezioni ed al processamento appropriato dei campioni biologici nel documento di consenso "Microbiologia e Malattie infettive" (*Microbiology and Infectious Diseases*) (1). Tuttavia negli ultimi anni sono stati pubblicati numerosi studi che hanno migliorato le nostre conoscenze sulle modalità di trasmissione dei diversi patogeni e sui fattori di rischio per la loro acquisizione. Nel Maggio 2001 la CFF ha convocato un team multidisciplinare per sviluppare raccomandazioni basate sull'evidenza per pratiche standardizzate di microbiologia clinica e di controllo delle infezioni.

### **B. PARTECIPANTI**

Un team multidisciplinare è stato selezionato dai co-presidenti. I partecipanti includevano medici, infermieri, professionisti dedicati al controllo delle infezioni, fisioterapisti, assistenti sociali, microbiologi, avvocati e rappresentanti dei pazienti con CF, provenienti dagli Stati Uniti, Canada ed Europa: la loro esperienza cumulativa nelle cure della CF ammontava a quasi 600 anni. I co-presidenti hanno organizzato l'agenda ed assegnato a ciascuno la responsabilità di presentare le informazioni di base e di completare una prima bozza delle raccomandazioni. Sono stati presentati i documenti di consenso sulle raccomandazioni per il controllo delle infezioni di Inghilterra, Canada, Germania e Danimarca. Le raccomandazioni finali contenute in questo documento sono state riviste da tutti i membri del comitato e da diversi esperti, che non hanno partecipato direttamente alla

conferenza. Non tutti i membri sono d'accordo per ogni raccomandazione, ma queste raccomandazioni rappresentano un consenso complessivo.

## C. OBIETTIVI DEL DOCUMENTO

Lo scopo di questo documento è di fornire un sommario di informazioni rilevanti e di raccomandazioni basate sull'evidenza sulle pratiche per il controllo delle infezioni per i pazienti con CF al fine di standardizzare le cure nei Centri CF. In assenza di dati adeguati, alcune raccomandazioni rappresentano il consenso dei partecipanti e di altri esperti, basato su un "forte" razionale teorico. La preparazione di questo documento ha perciò contribuito ad identificare aree per la futura ricerca. Le pratiche per il controllo delle infezioni sono descritte per il paziente ricoverato, il paziente ambulatoriale ed ambienti non-sanitari: le linee-guida valide per ciascun ambiente possono non essere applicabili ad un'altro ambiente. Per esempio, i pazienti ricoverati sono generalmente più sintomatici e producono una quantità maggiore di sputo, che contiene quantità maggiori di microrganismi patogeni, rispetto ai pazienti che si trovano in un ambiente non-sanitario. La durata e l'intensità di contatto tra pazienti ed operatori sanitari in una situazione ambulatoriale può essere maggiore durante una visita per valutare una fase acuta rispetto ad una visita routinaria. Alcuni ambienti non-sanitari possono fornire l'opportunità di un contatto più intimo e prolungato tra pazienti. I comportamenti possono variare nelle diverse situazioni ed in dipendenza dell'età, pediatrica o adulta. I neonati identificati attraverso lo screening neonatale possono essere più suscettibili a particolari patogeni che i pazienti di età maggiore. Inoltre, ogni circostanza non può essere anticipata, né regole rigide possono essere identificate per ogni potenziale contatto.

La discussione sulle informazioni di base e le raccomandazioni che seguono rappresentano la nostra attuale conoscenza sulle modalità di trasmissione dei patogeni tra i pazienti con CF. I principi guida per il controllo delle infezioni sono presentati a supporto delle raccomandazioni per le pratiche di controllo delle infezioni, specifiche per la CF e messe a punto allo scopo di prevenire la trasmissione di potenziali patogeni e di facilitare la decisionalità, quando gli operatori sanitari si confrontano con nuove situazioni. I teams per le cure della CF e per il controllo delle infezioni di ciascuna struttura possono cooperare per implementare queste raccomandazioni all'interno di ogni Centro CF. **Le raccomandazioni sono graduate sulla base delle evidenze pubblicate in letteratura a supporto di ciascuna. Le raccomandazioni di Categoria 1A e 1B sono "fortemente" supportate da evidenza scientifica e/o epidemiologica e la loro implementazione è "fortemente" raccomandata per tutti i Centri FC. Per le raccomandazioni di Categoria II, non vi è una "forte" evidenza, ma vi è un consenso basato su un razionale clinico, epidemiologico o teorico ed i singoli Centri possono decidere quali specifiche raccomandazioni sono appropriate per la propria realtà.** Una comprensione dei principi guida del controllo delle infezioni, presentati in questo documento, congiuntamente alla conoscenza della popolazione specifica afferente al Centro, delle condizioni cliniche di singoli pazienti, dei dati "in progress" acquisiti con il programma di sorveglianza e delle risorse utilizzabili permetterà a ciascun Centro flessibilità nell'implementazione delle raccomandazioni di Categoria II. Nel documento sono citate, quando rilevanti, le raccomandazioni tratte dalle linee-guida pubblicate da CDC e HICPAC. E' incluso un glossario con le definizioni dei termini utilizzati per il controllo delle infezioni ed i termini di microbiologia. Un documento separato per il controllo delle infezioni, preparato specificamente per pazienti con CF e le famiglie, è a disposizione nel sito web della CFF ([www.cff.org](http://www.cff.org)).

## PARTE II. INFORMAZIONI DI BASE

### A.

## PRINCIPI GENERALI DEL CONTROLLO DELLE INFEZIONI

### 1. Linee-guida esistenti per il controllo delle infezioni, applicabili ai pazienti con CF

#### 1.1 Linee-guida CDC/HICPAC

Le componenti di un programma di controllo delle infezioni, che sia efficace, sono rappresentate da una sorveglianza con feedback ai clinici, la prevenzione delle infezioni ed un controllo delle epidemie (41-43). Dal 1985 il CDC ha pubblicato numerose linee-guida per la prevenzione delle infezioni nelle strutture sanitarie ([www.cdc.gov/ncidod/hip](http://www.cdc.gov/ncidod/hip)). Dal 1992 le linee-guida di prevenzione delle infezioni del CDC sono state sviluppate primariamente in collaborazione con il HICPAC, che è composto di esperti nominati in controllo delle infezioni ed epidemiologia sanitaria esterni al CDC, ad esempio professionisti del controllo delle infezioni, epidemiologi, medici, microbiologi e funzionari di sanità pubblica. Tutte le linee-guida CDC/HICPAC sono a disposizione per commenti pubblici prima della messa a punto delle raccomandazioni. Le linee-guida sviluppate prima del 1998 erano scritte esclusivamente per gli ospedali, mentre quelle sviluppate più recentemente includono raccomandazioni per le strutture sanitarie extra-ospedaliere, deputate alla cura dei pazienti in fase non acuta. Questa modificazione è avvenuta in risposta allo spostamento delle cure dall'ospedale per acuti agli ambulatori e al domicilio. Ne deriva che il termine infezione *associata alle cure sanitarie* è ora preferibile al termine di infezione *nosocomiale*, a sottolineare che le attuali linee-guida includono e riguardano le diverse strutture sanitarie. Il termine "nosocomiale" si riferisce ad infezioni acquisite nell'ospedale.

Diverse linee-guida del HICPAC sono state pubblicate o sono in corso di sviluppo/revisione e forniscono utili informazioni di base e raccomandazioni graduate sulla base dell'evidenza (NT: in italiano si usa anche il termine "prove di efficacia"), che sono applicabili ai pazienti con CF. Queste includono: 1) "Linee-guida per le Precauzioni di Isolamento negli Ospedali" (*Guideline for Isolation Precautions in Hospitals*), che forniscono raccomandazioni per l'uso di *precauzioni standard* e *precauzioni basate sulla trasmissibilità* e per il trattamento di pazienti infetti o colonizzati con MDROs ed agenti infettivi ad alta trasmissibilità (in revisione)(2); 2) "Linee-guida per la Disinfezione e Sterilizzazione nelle Strutture Sanitarie" (*Guideline for Disinfection and Sterilization in Healthcare Facilities*), che forniscono metodi ed indicazioni per la sterilizzazione e la disinfezione degli strumenti utilizzati per la terapia respiratoria (15); 3) "Linee-guida per l'Igiene delle Mani nelle Strutture Sanitarie" (*Guideline for Hand Hygiene in Health-Care Settings*), che descrivono l'uso di antisettici a base di alcool per la frizione delle mani, di sapone a base di antimicrobici ed acqua, così come programmi educazionali per aumentare l'aderenza alle pratiche raccomandate (13); 4) "Linee-guida per il Controllo delle infezioni Ambientale nelle Strutture Sanitarie" (*Guideline for Environmental Infection Control in Healthcare Facilities*), che riguardano il "trattamento" dell'aria, dell'acqua e delle superfici per ridurre il rischio di trasmissione di agenti infettivi (44); 5) "Linee-guida per la Prevenzione delle Infezioni Polmonari ("Polmoniti") associate alle Cure Sanitarie" (*Guideline for Prevention of Healthcare-Associated Pneumonia*), che illustrano le *precauzioni basate sulla trasmissibilità* raccomandate per i pazienti con infezione polmonare, considerando l'epidemiologia degli agenti infettivi, la manutenzione degli strumenti per la terapia respiratoria, e le misure aggiuntive per prevenire l'acquisizione di infezione polmonare

(“polmonite”) associata alle cure sanitarie (in revisione)(45); 6) ‘Linee-guida per il Controllo delle infezioni nel Personale Sanitario’ (*Guideline for Infection Control in Healthcare Personnel*), che forniscono raccomandazioni per gli operatori sanitari con preesistente o acquisita condizione morbosa, che potrebbe avere implicazioni per la trasmissione di potenziali patogeni (46). Più recentemente HICPAC e CDC stanno identificando parametri per misurare come la diffusione, l’implementazione e l’impatto delle linee-guida possa modificare la pratica e ridurre la frequenza di infezioni. Raccomandazioni specifiche per i pazienti con CF sono raramente incluse nelle linee-guida del CDC: da ciò deriva l’urgenza per la stesura di questo documento.

## 1.2. Applicabilità delle precauzioni standard e delle precauzioni basate sulla trasmissibilità ai pazienti con CF

Le *precauzioni standard* sono state considerate nel documento ‘Linee-guida del 1996 per le Precauzioni per l’Isolamento negli Ospedali’ (*1996 Guideline for Isolation Precautions in Hospitals*) la base per le raccomandazioni finalizzate a prevenire la trasmissione di agenti infettivi nelle strutture sanitarie (2). Le *precauzioni standard* combinano i principi delle *precauzioni universali* (UP), che sono state finalizzate a ridurre il rischio di trasmissione di patogeni presenti nel sangue (ad esempio il virus dell’immunodeficienza acquisita (HIV), virus dell’epatite B e virus dell’epatite C), e *l’isolamento di sostanze corporee* (BSI), che è stato finalizzato a ridurre il rischio di trasmissione di patogeni dalla maggior parte delle sostanze corporee. **Le precauzioni standard (vedi anche il glossario) considerano il sangue, i fluidi corporei, le secrezioni incluse quelle delle vie respiratorie, la cute non intatta, le membrane mucose e le escrezioni (con l’eccezione del sudore) come potenziali serbatoi di agenti infettivi trasmissibili.** Per prevenire la trasmissione da persona a persona di agenti infetti, gli Operatori sanitari devono osservare una appropriata combinazione di pratiche e di precauzioni di barriera basate sul tipo di esposizione (cioè igiene delle mani; guanti; camice; maschera, protezione oculare, schermo protettivo del viso; e disinfezione, contenimento delle secrezioni respiratorie). **Le precauzioni standard si estendono a considerare il maneggiare strumentazione o gli oggetti dell’ambiente del paziente, che sono stati probabilmente contaminati con secrezioni o fluidi infetti.** La Tabella 1 riassume le componenti specifiche delle *precauzioni standard*, considerando il tipo attività di cure rivolte al paziente.

**Tabella 1. Raccomandazioni per l’applicazione di precauzioni standard nelle cure rivolte ai pazienti in tutti gli ambienti sanitari\***

ATTIVITA'	RACCOMANDAZIONI
<ul style="list-style-type: none"> <li>Dopo contatto con sangue, fluidi corporei, secrezioni, escrezioni, oggetti contaminati</li> </ul>	Igiene delle mani
<ul style="list-style-type: none"> <li>Immediatamente dopo la rimozione dei guanti</li> <li>Nei contatti tra paziente e paziente</li> </ul>	Guanti
<ul style="list-style-type: none"> <li>Per il contatto con sangue, fluidi corporei, secrezioni, escrezioni, oggetti contaminati</li> <li>Per il contatto con membrane mucose e pelle non intatta</li> </ul>	Maschera, protezione oculare, schermo protettivo il viso
<ul style="list-style-type: none"> <li>Durante procedure ed attività di cura rivolte al paziente, che hanno probabilità di produrre schizzi o spruzzi di sangue, fluidi corporei, secrezioni, escrezioni</li> <li>Durante procedure ed attività di cura rivolte al paziente, che hanno probabilità di produrre schizzi o spruzzi di sangue, fluidi corporei, secrezioni, escrezioni</li> </ul>	Camice
<ul style="list-style-type: none"> <li>Maneggiare strumenti per le cure del paziente contaminati</li> </ul>	Maneggiare in modo da prevenire la contaminazione o il trasferimento di microrganismi ad altri e all’ambiente
<ul style="list-style-type: none"> <li>Controllo ambientale</li> </ul>	Sviluppare procedure per la manutenzione routinaria, la pulizia e la disinfezione di superfici ambientali
<ul style="list-style-type: none"> <li>Maneggiare biancheria da letto</li> </ul>	Maneggiare in modo da prevenire le esposizioni, la contaminazione ed il trasferimento di microrganismi ad altri e all’ambiente
<ul style="list-style-type: none"> <li>Utilizzare oggetti acuminati</li> </ul>	Evita di rimpucciare, piegare, spezzare o manipolare aghi usati Posiziona gli oggetti acuminati in contenitori resistenti alla puntura Utilizza strumenti ad ago sicuri se possibile
<ul style="list-style-type: none"> <li>Rianimazione del paziente</li> <li>Posizionamento del paziente</li> </ul>	Usa boccaglio, pallone ad Ambu o altri strumenti per la ventilazione Se è probabile che il paziente contaminerà l’ambiente o non mantiene appropriata igiene, mantieni il paziente in una stanza singola, se possibile

\*: adattato da (2)

Le *precauzioni basate sulla trasmissibilità* (vedi anche glossario) sono applicate ai pazienti con infezione documentata o sospetta da parte di agenti infettivi molto trasmissibili o epidemiologicamente importanti, per i quali sono richieste precauzioni aggiuntive oltre alle precauzioni standard per prevenire la trasmissione. Sono incluse le seguenti categorie di precauzioni: *per il contatto, per le goccioline provenienti dalle vie respiratorie, isolamento per infezione trasmessa per via aerea ed ambiente protetto* (vedi anche il glossario). Per i pazienti con CF l'uso delle *precauzioni per il contatto* (vedi anche glossario) sono particolarmente importanti per prevenire la trasmissione di MDROs, ad esempio MRSA, *B. cepacia* complex, *P. aeruginosa* multi-resistente ai farmaci o virus respiratori.

Sia le *precauzioni standard* che le *precauzioni basate sulla trasmissibilità* sono applicabili ai pazienti con CF. Dopo una revisione dell'epidemiologia dei patogeni nei pazienti con CF e degli studi pubblicati sulla trasmissione di agenti infettivi tra i pazienti con CF, riassunti nella sezione sulle informazioni di base di questo documento, il nostro gruppo ha concluso che le secrezioni respiratorie di tutti i pazienti con CF potrebbero essere potenzialmente infettate da microorganismi rilevanti dal punto di vista clinico ed epidemiologico, anche se non ancora identificati in coltura microbiologica. **Perciò gli operatori sanitari che si occupano delle cure ai pazienti con CF devono usare tutte le precauzioni appropriate per prevenire la trasmissione da paziente a paziente di patogeni. Il contatto tra i pazienti deve essere limitato per evitare trasmissione di questi potenziali patogeni attraverso le goccioline provenienti dalle vie respiratorie o il contatto diretto o indiretto, anche se i risultati delle colture non sono disponibili o sono negative per i patogeni tipici della CF.** Per i pazienti che vivono insieme nella stessa dimora, il contatto non può essere evitato. Tuttavia l'uso routinario di precauzioni raccomandate limiterà il contatto con le secrezioni respiratorie dell'uno e dell'altro.

### 1.3. Igiene delle mani

La pratica singola più importante nella prevenzione della trasmissione di agenti infettivi è l'osservare una appropriata igiene delle mani tra i contatti con il paziente ed ogni volta che le mani sono contaminate con secrezioni respiratorie sia per contatto diretto con il paziente che per contatto con gli strumenti del paziente che sono stati contaminati. Numerosi studi hanno dimostrato una maggiore efficacia nel ridurre la contaminazione batterica delle mani utilizzando antisettici a base di alcool per la frizione delle mani in comparazione al lavaggio utilizzando acqua e sapone normale o a base di antimicrobici (12, 13); perciò questi agenti sono ora da preferire per l'igiene delle mani sia nelle corsie ospedaliere, che in ambulatorio (13). Tuttavia quando le mani sono visibilmente sporche o contaminate con liquidi corporei o visibilmente andate in contatto con sangue, devono essere lavate con sapone ed acqua. Un sapone a base di antimicrobici è da preferire nelle cure del paziente con CF.

La cura delle unghie delle dita e della pelle delle mani è una componente importante dell'igiene. Gli operatori sanitari, che hanno unghie artificiali, hanno più probabilità di albergare patogeni gram-negativi sull'estremità delle loro dita sia prima che dopo il lavaggio delle mani rispetto agli Operatori sanitari che hanno unghie naturali (47). Inoltre le unghie artificiali degli Operatori sanitari sono state associate con la trasmissione di agenti infettivi, inclusa la *P. aeruginosa*, durante epidemie nelle unità di cure intensive (ICU)(48-51). Sebbene non vi siano studi sul ruolo delle unghie artificiali nella trasmissione di patogeni tra i pazienti con CF, l'esperienza fatta nelle ICU può essere applicata alla CF. Perciò è raccomandato agli Operatori sanitari che hanno contatto diretto con pazienti con CF di avere solo unghie naturali.

### 1.4. Manutenzione degli strumenti per la terapia respiratoria

Un'appropriata pulizia, sterilizzazione o disinfezione di strumenti riutilizzabili sono componenti essenziali di un programma per prevenire le infezioni associate alla strumentazione per la terapia

respiratoria nei pazienti con CF. Gli strumenti utilizzati per la terapia respiratoria (ad esempio le ampole per aerosol) o per la diagnosi (ad esempio broncoscopi o spirometri) sono potenziali serbatoi o veicoli per la trasmissione di organismi infettivi. Le modalità per la trasmissione possono essere da uno strumento contaminato ad un paziente, da un paziente ad un altro paziente attraverso uno strumento contaminato o da una sede corporea alle vie respiratorie nello stesso paziente. I serbatoi di strumenti che producono aerosol (ad esempio le ampole per aerosol) sono sedi di una crescita esuberante di batteri che possono essere aerosolizzati durante l'uso degli strumenti. La pulizia ed il lasciar asciugare gli strumenti per la terapia respiratoria domiciliare negli intervalli tra il loro uso sono stati dimostrati essere associati ad un ridotto rischio di acquisire *B. cepacia* complex in una indagine multicentrica che ha riguardato 21 Centri CF nel periodo 1986-1989 (52). Le ampole per aerosol, sia se inserite in circuiti che per uso domiciliare con gli apparecchi comuni per aerosol, possono produrre aerosol di batteri e sono state implicate nell'acquisizione di infezione respiratoria associata alle cure sanitarie, a causa delle fiale multidose di farmaci contaminate o di acqua del rubinetto contaminata usata per risciacquare e riempire i serbatoi degli strumenti (44, 45, 53-57). Perciò sono sempre da preferire fiale monodose di farmaci. Se devono essere utilizzate fiale multi-dose di farmaci, devono essere seguite scrupolosamente le istruzioni della casa produttrice per l'uso e la conservazione allo scopo di prevenire la contaminazione e la trasmissione di potenziali patogeni. Inoltre è raccomandata l'acqua sterile poiché l'acqua del rubinetto può contenere NTM, funghi, *Pseudomonas* spp. o *Aeromonas* spp. (45, 58-60). Può essere accettabile ed utilizzata l'acqua che è stata processata attraverso un filtro di 0.2 µm per rimuovere i batteri. Questi sistemi di filtrazione non sono facilmente disponibili e di facile manutenzione per un uso domiciliare.

Benchè non vi siano studi pubblicati di infezioni acquisite da strumenti contaminati durante il trattamento domiciliare, è stata documentata la contaminazione batterica di ampole per aerosol ad uso domiciliare da parte di pazienti con CF (61, 62-64). In uno studio recente di contaminazione sperimentale di ampole aerosol, l'acqua calda ed il sapone rimuovono efficacemente la maggior parte dei batteri che erano stati inoculati nelle ampole (63). Queste condizioni sperimentali possono non riprodurre l'uso da parte dei pazienti e vi è timore che potenziali patogeni da fonti ambientali (ad esempio acqua del rubinetto) possano contaminare gli strumenti inavvertitamente e potenzialmente infettare i pazienti. Per prevenire questa possibilità gli strumenti per la terapia respiratoria dovrebbero essere puliti e disinfettati a domicilio. Gli strumenti devono essere ben puliti per rimuovere tutti i residui organici ed inorganici prima della sterilizzazione o della disinfezione, in accordo alle raccomandazioni della casa produttrice. I residui secchi o cotti degli strumenti rendono la loro eliminazione più difficile ed il processo di disinfezione o sterilizzazione diviene meno efficace o perfino inefficace (65-66). Dopo il lavaggio, le parti riutilizzabili che entrano in contatto con le membrane mucose (ad esempio le ampole per aerosol, i tubi per tracheostomia) possono essere disinfettati con l'immersione in uno dei seguenti disinfettanti, che possono essere facilmente ottenuti per l'uso domiciliare (14, 67):

- sodio ipoclorito al 6% (varechina domestica) e diluito 1:50 per 3 minuti;
- alcool etilico o isopropilico al 70-90% per 5 minuti;
- perossido di idrogeno al 3% per 30 minuti.

Queste preparazioni perderanno la loro attività con il tempo ma la durata ottimale di immagazzinamento non è nota. Per esempio, le preparazioni a base di cloro hanno una riduzione in attività del 50% dopo 30 giorni (D. Weber e W. Rutala, comunicazione personale). L'acido acetico (aceto) non è raccomandato poiché ha una attività inadeguata rispetto ad alcuni potenziali patogeni, che includono batteri gram-positivi (ad esempio lo *S. aureus*) e gram-negativi (ad esempio *Escherichia coli*)(68-69). Tuttavia l'aceto uccide *P. aeruginosa*. Dopo l'uso di un agente sterilizzante o disinfettante chimico, il risciacquare gli strumenti con acqua sterile o appropriatamente filtrata è preferibile poiché l'acqua del rubinetto o l'acqua distillata preparata localmente possono contenere organismi patogeni. L'acqua sterile può essere preparata a domicilio raggiungendo un'evidente ebollizione per 5 minuti. L'acqua sterile può essere contaminata, ma non

è noto quando ciò avviene. La bollitura dell'acqua immediatamente prima dell'uso minimizza questa possibilità.

L'acqua distillata non dovrebbe essere utilizzata per la pulizia ed il risciacquo degli strumenti per la terapia respiratoria poiché si può verificare contaminazione con *B. cepacia* complex durante il processo di produzione della stessa. Le sole regole per la produzione di acqua distillata riguardano la prevenzione della contaminazione con batteri coliformi, ad esempio *E. coli* e *Klebsiella-Enterobacter* spp. (70).

Gli strumenti possono essere bolliti per 5 minuti per la loro disinfezione, se ciò è permesso dalla ditta produttrice (15). La lavastoviglie o il forno a microonde spesso sono utilizzati per disinfettare gli strumenti a domicilio dopo un appropriato lavaggio. Se gli strumenti sono adatti per l'uso con la lavastoviglie, deve essere raggiunta una temperatura maggiore di 158° F (70° C) per 30 minuti; sfortunatamente questa temperatura è ben maggiore di quella raggiunta dalla maggior parte delle lavastoviglie domestiche (69, 71, 72). Se gli strumenti sono adatti per l'uso con il forno a microonde, le microonde prodotte da uno strumento di uso domestico (2.45 Ghz) inattiveranno i microorganismi entro 5 minuti (73-75).

Riassumendo, è importante utilizzare protocolli standardizzati per la pulizia, allo scopo di rimuovere i residui organici, e per la disinfezione degli strumenti utilizzati per la terapia respiratoria sia nelle strutture sanitarie, dove gli strumenti sono utilizzati da più di un paziente, che a domicilio dove usualmente gli strumenti sono utilizzati da un solo paziente. Il mettere in comune gli strumenti per i fratelli a domicilio è stato associato a trasmissione di *B. cepacia* (76). Le ampole per aerosol per l'uso domiciliare possono essere contaminate con patogeni, che derivano dai pazienti con CF, e l'acqua del rubinetto è una fonte conosciuta di organismi potenzialmente patogeni. Perciò, la manutenzione degli strumenti per la terapia respiratoria eseguita a domicilio dovrebbe essere simile alle procedure utilizzate nell'ospedale e devono includere il lavaggio, la disinfezione e l'asciugatura.

## **2. Documenti di consenso sul controllo delle infezioni utilizzati in altri paesi**

Le raccomandazioni per il controllo delle infezioni del Canada, Inghilterra, Danimarca e Germania/Francia sono state riviste dal comitato (77-80). Le raccomandazioni europee differiscono da quelle nordamericane per diversi aspetti. I centri europei enfatizzano le procedure di sorveglianza con frequenti colture delle vie respiratorie ed un avvio di trattamento antimicrobico alla prima acquisizione di *P. aeruginosa* (16, 18, 81). Questi raccomandano inoltre di separare i pazienti sulla base del risultato delle colture (ad esempio, pazienti positivi o negativi per *B. cepacia* e pazienti positivi o negativi per *P. aeruginosa*) sia nelle strutture ospedaliere che nelle strutture ambulatoriali. Questi sforzi sono stati validati con la dimostrazione di riduzione nella trasmissione di patogeni da paziente a paziente nella CF (82-84). Non è raccomandato ai pazienti con CF di indossare di routine una maschera chirurgica quando frequentano le strutture sanitarie. Differenze nell'organizzazione sanitaria e nelle costruzioni deputate alla funzione di strutture sanitarie nei diversi paesi possono spiegare parte della variabilità nelle raccomandazioni.

## **3. Superare le barriere all'adesione alle linee guida per il controllo delle infezioni**

Nonostante la dimostrata efficacia clinica ed economica dell'uso di pratiche corrette di igiene delle mani nel prevenire la trasmissione di agenti infettivi, l'adesione degli operatori sanitari a queste pratiche raccomandate è stata di solito inferiore al 50%, anche quando ci si occupa dell'assistenza ai pazienti più gravi delle Terapie Intensive (12,13). Egualmente, l'efficacia e la convenienza economica delle *precauzioni per contatto* sono state dimostrate per il controllo delle infezioni da

MRSA endemico o epidemico (85 – 87), di VRE (88 – 92) o di RSV (93 – 94) in ospedali per acuti ed in una struttura sanitaria regionale (95). Tra le ragioni citate dagli operatori sanitari per spiegare la mancata adesione vi sono: (1) il disagio, il tempo ed il costo dei presidi; (2) la preoccupazione che l'uso di guanti, mascherine e camici depersonalizzino le cure, aumenti l'ansia del paziente e riduca la frequenza dei contatti fra operatori e paziente; (3) la mancanza di comprensione o di convinzione che le pratiche raccomandate siano efficaci ed applicabili in tutte le istituzioni; (4) la mancanza di sostegno da parte dei direttori dei servizi di cura e degli amministratori; e (5) l'impatto psicosociale negativo sui pazienti. Usando teorie comportamentali, alcuni ricercatori hanno concluso che ottenere un'adesione convinta alle precauzioni raccomandate per il controllo delle infezioni è un procedimento complesso e richiede un insieme di educazione, motivazione e modifiche del sistema (12, 13, 96, 97). Le dinamiche di adesione alle pratiche di igiene delle mani sono state ampiamente studiate (12, 13). Programmi specifici di educazione con supporto attivo da parte degli amministratori sanitari sono stati associati ad una migliorata probabilità di adesione alle pratiche raccomandate di igiene delle mani e ad una ridotta probabilità di infezioni ospedaliere causate da MRSA e VRE (12, 13, 96, 98). Sulla base della teoria comportamentale e di esperienze pubblicate, le raccomandazioni per superare le barriere all'adesione alle linee guida per il controllo delle infezioni nei Centri CF sono fornite più avanti (12, 97, 99). Un costante supporto amministrativo, il monitoraggio delle pratiche di controllo delle infezioni e della frequenza delle infezioni ed il fornire un adeguato ritorno di informazioni agli operatori sanitari sono componenti essenziali nella implementazione e nel sostegno a nuove linee guida. Inoltre, la forte motivazione dei membri della comunità CF ed un approccio fattivo ad abbracciare programmi preventivi sono importanti risorse per ottenere una significativa adesione alle pratiche raccomandate.

## **B.**

# **METODOLOGIE PER LA MICROBIOLOGIA, LA TIPIZZAZIONE MOLECOLARE E LA SORVEGLIANZA**

## **1. Introduzione**

Delineare l'epidemiologia e prevenire la trasmissione di agenti infettivi nei pazienti CF sono azioni che iniziano con la identificazione dei germi nel laboratorio di microbiologia clinica. L'accurata identificazione dei microrganismi nell'albero respiratorio dei pazienti CF ha implicazioni per la terapia, l'epidemiologia ed il controllo delle infezioni. Per tale motivo, l'accurata identificazione, il saggiare la sensibilità agli antibiotici, la sorveglianza, la tipizzazione molecolare, quando appropriata, e la consapevolezza dei limiti dei metodi attualmente disponibili sono le pietre angolari per le raccomandazioni fornite in questo documento.

## **2. Sintesi sull'epidemiologia dei patogeni nei pazienti CF**

L'epidemiologia tipica dei patogeni CF è stata descritta da decenni (100 – 102). La prevedibile cascata dei patogeni è universale, iniziando di solito con *H. influenzae* non tipizzabile e *S. aureus* per proseguire verso *P. aeruginosa* (103). Sebbene siano stati delineati una serie di fattori legati all'ospite, che predispongono i pazienti CF alle infezioni (Tabella 2), le ragioni precise per questa sequenza di eventi non sono ancora interamente comprese. Come riportato nel rapporto annuale dei dati del Registro dei Pazienti della CFF statunitense per il 2001 (Figura), la prevalenza di *S. aureus* nelle secrezioni respiratorie dei pazienti CF è circa il 40% durante il 1° anno di vita, sale al 58% durante l'adolescenza e si riduce nel corso dell'età adulta. *P. aeruginosa* può essere il primo patogeno isolato fino al 30% dei lattanti (8, 9). A partire dai 18 anni di età, 80% dei pazienti sono infetti da *P. aeruginosa*. Circa il 3% dei pazienti CF di tutte le età attualmente ospita *B. cepacia* complex, e l'8% degli adulti sono infetti da questo microrganismo. La prevalenza e le implicazioni



cliniche di altri germi multiresistenti agli antibiotici, come *A. xylosoxidans*, *S. maltophilia* e NTM sono attualmente in via di definizione. Mentre il Registro dei Pazienti della CFF statunitense è il più grande database del suo genere, vi sono dei limiti nei suoi dati, dovuti a differenze dei metodi di laboratorio, dei rapporti, al non omogeneo processamento dei campioni di laboratorio ed alla mancanza di studi di validazione.

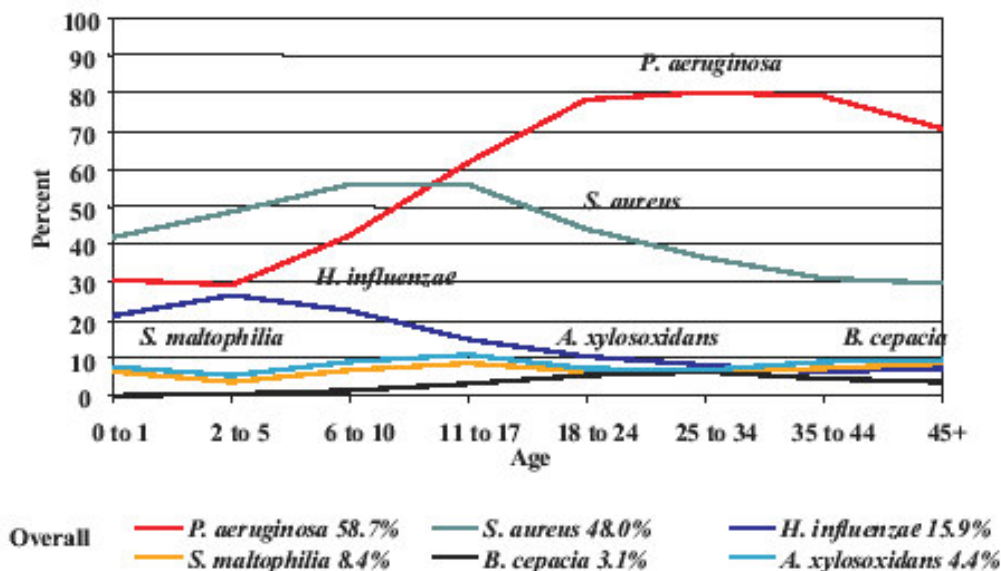
**Tabella 2. Alterazioni dell'ospite che predispongono i pazienti CF alle infezioni polmonari croniche**

Alterazione	Effetto suggerito	Intervento proposto
Cystic fibrosis Transmembrane Regulator (CFTR) anormale	Secrezioni alterate (ridotto volume del liquido di superficie delle vie aeree e sua ipertonicità) portano ad un muco spesso e disidratato, alterazione della clearance muco-ciliare ed alterata attività anti-microbica mediata dalle difese	- Fisioterapia respiratoria - DNase per aerosol - Terapia genica * - Modificare il bilancio di sali ed acqua con amiloride per via aerosolica (blocco di uptake di Na <sup>+</sup> )*, con uridina trifosfato (UTP) (aumento di efflusso di Cl <sup>-</sup> )*, o fornire una nuova proteina † - Anticorpi bloccanti anti-aGM1 †
Aumentata espressione di asialoganglioside (aGM1)	Legame facilitato alle cellule di <i>S. aureus</i> e <i>P. aeruginosa</i>	-
Alterato uptake di <i>P. aeruginosa</i> da parte delle cellule, mediato da CFTR	Ridotta clearance attraverso l' "esfoliazione" di cellule epiteliali, dove <i>P. aeruginosa</i> è "internalizzata"	- Terapia genica *
Alterata regolazione delle citochine pro-infiammatorie	Eccessivo reclutamento dei neutrofili e rilascio di sostanze ossidanti	- Terapia antiinfiammatoria, ad es. con steroidi o ibuprofen, che sono peraltro associati ad effetti collaterali come cataratta, scarsa crescita e sanguinamento gastrointestinale
Aumentata espressione di IL-8 e TNF-alfa	Accentuata regolazione dei geni della mucina umana	- Agenti anti-infiammatori più selettivi †
Variante della lecitina legante il mannosio (MBL)	I polimorfismi possono legare in modo diverso i carboidrati di superficie dei batteri	- Sostituzione di MBL †

\*: interventi, oggetto di ricerca sperimentale

†: interventi teorici

**Figura:** prevalenza secondo l'età dei patogeni respiratori nei pazienti CF. Registro Nazionale dei pazienti CFF 2001 (9)



### 3. Uso di terreni selettivi per l'isolamento dei patogeni nei pazienti CF

Nelle secrezioni respiratorie dei pazienti CF, il numero di patogeni può essere elevato, e per alcuni di essi è indispensabile l'uso di mezzi di coltura selettivi (104-105). Il microrganismo predominante è *P. aeruginosa*, che spesso è presente in grande quantità (fino a  $10^9$  unità formanti colonia [CFU] per grammo di sputo) e può essere mucoide; tali germi possono crescere rapidamente e nascondere microrganismi a crescita più lenta e più esigenti (per es. *H. influenzae*) (104). In un recente studio sulla microbiologia del tratto respiratorio dei pazienti CF, eseguito in un laboratorio di riferimento, i campioni di espettorato di 595 pazienti (di età maggiore o uguale a 6 anni) provenienti da 69 centri contenevano una media di 2.9 germi per campione (10).

Il primo uso di terreni di coltura selettivi per campioni biologici provenienti da pazienti CF è stato riportato da Kilbourn nel 1968, per favorire la crescita di bacilli gram-negativi e stafilococchi (106). Nel 1984 Wong et al. perfezionarono il processamento dei campioni di espettorato CF includendo agars selettivi per *P. aeruginosa* (cetrimide), streptococchi (agar sangue con neomicina e gentamicina), *H. influenzae* (terreno a base di N-Acetil-D-glucosamina, con incubazione anaerobica), stafilococchi (agar con sali di mannitolo) e bacilli gram-negativi non fermentanti il lattosio (agar MacConkey) (104). Le raccomandazioni attuali per l'uso di terreni di coltura selettivi sono riassunte in Tabella 3.

**Tabella 3. Mezzi di coltura raccomandati e processamento per l'isolamento dei patogeni CF**

Microrganismo	Mezzo di coltura raccomandato o processamento*
<i>S. aureus</i>	Agar con sali di mannitolo Agar Columbia/agar colistina-acido nalidixico
<i>H. influenzae</i>	Sangue di cavallo o agar cioccolato (supplementato o meno con bacitracina 300 mg/L) incubato anaerobicamente
<i>P. aeruginosa</i>	Agar MacConkey
<i>B. cepacia</i> complex	Agar OFPBL, agar PC, BCSA
<i>S. maltophilia</i>	Agar MacConkey, agar VIA Agar con Dnase come terreno di conferma o identificazione biochimica o molecolare
<i>A. xylosoxidans</i>	Agar MacConkey Metodo di identificazione biochimico
Micobatteri spp.	NALC-NaOH e passaggio di decontaminazione con acido oxalico
<i>Aspergillus</i> spp.	<i>Aspergillus</i> spp. ed altri miceti non crescono bene con Mycosel, mentre crescono bene (benchè non selettivamente) con altri terreni usati per i campioni biologici FC, specialmente OFPBL
Altri organismi gram-positivi	Agar sangue di pecora supplementato con neomicina e gentamicina (agar selettivo per streptococco)
Altri organismi gram-negativi	Agar MacConkey

\* L'isolamento di alcuni patogeni può essere aumentato prolungando l'incubazione fino a 4 giorni per consentire a colonie a lenta crescita di divenire apparenti. Tutti i mezzi di coltura sono disponibili in commercio.

#### 3.1. Terreni selettivi per *B. cepacia* complex

Con la comparsa dei ceppi di *B. cepacia* complex, ritenuti patogeni significativi nei pazienti CF, è divenuta evidente la necessità di terreni selettivi per questi microrganismi. Il primo di questi, l'agar *Pseudomonas cepacia* (PC), è stato descritto da Gilligan et al. nel 1985 e conteneva nutrienti con crystal violetto, sali biliari e ticarcillina e polimixina, come agenti selettivi (107). In uno studio di 169 campioni biologici provenienti da pazienti CF, *B. cepacia* complex è stato isolato da 35 di questi, usando l'agar PC, e solo in 21 usando l'agar MacConkey. Viceversa, microrganismi non-*cepacia* erano inibiti dall'agar PC; 221 potenziali patogeni erano isolati su terreni non selettivi, ma solo 6 erano ritrovati su agar PC. L'agar OFPBL (terreno di base ossidativo-fermentativo con polimixina B, bacitracina e lattosio), sviluppato da Welch et al., usa terreni di base ossidativo-fermentativi come indicatore, il lattosio come zucchero nutriente, e bacitracina e polimixina come agenti selettivi (108). Utilizzando OFPBL, 58 (8%) su 725 campioni biologici evidenziarono *B.*

*cepacia* complex, mentre solo 19 (2.6%) erano positivi usando il MacConkey e l'agar sangue di pecora. In collaborazione con il CDC, è stato condotto uno studio di competenza laboratoristica, utilizzando espettorato simile a quello CF contenente *B. cepacia* (109). Il Test 1 valutava la capacità dei laboratori di identificare *B. cepacia* come singolo germe isolato; 105 (95%) su 111 laboratori lo fecero con successo. Il Test 2 valutava la capacità dei laboratori di isolare *B. cepacia* da sputo simile a quello CF contenente almeno  $10^5$  CFU per ml di *B. cepacia*, *S. aureus*, e *P. aeruginosa*. Globalmente, 36 (32%) su 115 laboratori identificarono *B. cepacia*; 14 (95%) su 15 laboratori che usavano i terreni OFPBL o agar PC identificarono *B. cepacia*, rispetto a 22/100 laboratori che non usavano terreni selettivi. Il Test 3 valutava la migliorata competenza dei laboratori, che avevano fallito l'identificazione di *B. cepacia* nel Test 2; il 97% ebbero successo utilizzando terreni selettivi. Gli unici insuccessi si verificarono quando non erano usati mezzi selettivi. È stato sviluppato un nuovo agar selettivo per *B. cepacia* (BCSA) (110), che si è dimostrato ancora più selettivo rispetto all'agar PC e all'OFPBL in un test su 656 campioni biologici provenienti da pazienti CF (111). Tutti questi 3 terreni di coltura sono disponibili in commercio.

### 3.2. Terreni selettivi per *S. aureus*

Terreni selettivi per *S. aureus* sono stati in uso per vari decenni. L'agar con sali di mannitolo, che usa il cloruro di sodio come agente selettivo ed il rosso fenolo come indicatore di utilizzazione del mannitolo, è selettivo per gli stafilococchi e può distinguere tra *S. aureus* e stafilococchi non patogeni (112). Il terreno Columbia/colistina-acido nalidixico è selettivo per gli stafilococchi, ma non distingue *S. aureus* da altri tipi di stafilococco. L'agar contenente oxacillina è usato per screenare per MRSA nella maggior parte dei laboratori di microbiologia clinica (113).

### 3.3. Terreni selettivi per *S. maltophilia*

Numerosi terreni di coltura sono stati usati per l'identificazione e l'isolamento di *S. maltophilia*. L'agar con DNase contiene DNA e blu di toluidina come indicatore di attività DNasica da parte di *S. maltophilia*. Comunque, l'agar con DNase non contiene agenti selettivi ed è quindi un terreno di coltura per conferma piuttosto che un terreno selettivo. L'uso di un agar selettivo VIA (vancomicina, imipenem, amfotericina B) è stato riportato da Denton et al. (115). Gli ingredienti comprendono una base di agar mannitolo, blu bromotimolo come indicatore e vancomicina, imipenem e amfotericina B come agenti selettivi. Uno studio di 814 campioni di espettorato ha dimostrato buone sensibilità e specificità: 129 (55%) su 235 campioni positivi con VIA erano negativi su agar cioccolato con bacitracina, mentre nessuno dei 579 campioni negativi con VIA era positivo sull'agar cioccolato con bacitracina.

### 3.4. Processare l'espettorato per NTM

Per migliorare il ritrovamento di NTM e prevenire la contaminazione con *P. aeruginosa*, i campioni di espettorato in coltura per NTM, provenienti da pazienti CF, devono essere processati diversamente da quelli provenienti da pazienti non CF. Whittier et al. hanno dimostrato che se la fase di decontaminazione con N-acetil-L-cisteina e idrossido di sodio (NALC-NaOH) era seguita da acido ossalico al 5%, la contaminazione da *P. aeruginosa* veniva ridotta dal 36 al 5% (116). Comunque, in uno studio di competenza eseguito da laboratori partecipanti ad uno studio sulla storia naturale dei NTM nei pazienti CF, i laboratori non riuscirono a trovare NTM quando questi erano presenti alla bassa concentrazione di inoculo di  $10^4$  CFU per ml (117). È da segnalare che Bange et al. hanno riportato una riduzione del ritrovamento di NTM da campioni biologici a bassa concentrazione, dovuto all'effetto microbicida dell'acido ossalico (118).

#### 4. Tests di sensibilità agli antimicrobici

Testare in maniera accurata la sensibilità agli antimicrobici è un momento critico per assicurare una terapia efficace e per definire accuratamente l'epidemiologia della resistenza agli antibiotici. Il documento di consensus del 1994 ha raccomandato che i dischi impregnati di antibiotico (Kirby Bauer) vengano usati per determinare la sensibilità agli antibiotici dei ceppi non-mucoidi e mucoidi di *P. aeruginosa* isolati da pazienti CF (1). Negli studi condotti per determinare i metodi ottimali per i test di sensibilità agli antibiotici, sono stati testati 500 ceppi multiresistenti di *P. aeruginosa*, provenienti da pazienti CF diversi (119). Test commerciali automatizzati di microdiluzione "in brodo", compresi Microscan e Vitek, hanno dimostrato di avere una frequenza inaccettabilmente elevata di errori "molto gravi" (ad esempio, false sensibilità) ed errori "gravi" (ad esempio, false resistenze) (19), quando comparati con metodi di riferimento di microdiluzione "in brodo" (21). Viceversa, test di diffusione su agar, come con i dischi antibiotati o gli E-tests (striscette impregnate di antibiotico) erano molto più accurati e paragonabili al metodo di riferimento (119). Questi studi confermano le raccomandazioni del 1994 e sono stati approvati dalla National Committee for Clinical Laboratory Standards (20). Sono in corso studi per determinare i metodi ottimali per testare la sensibilità agli antibiotici di altri germi multiresistenti, come *B. cepacia* complex, *S. maltophilia*, o *A. xylosoxidans*, ma i risultati non sono stati ancora pubblicati.

#### 5. Tecniche di epidemiologia molecolare per la tipizzazione di ceppi batterici isolati in CF

##### 5.1. Metodologie di tipizzazione

I metodi utilizzati a scopi epidemiologici per tipizzare i batteri isolati dalle vie respiratorie CF si sono evoluti nel corso del passato decennio. Mentre i primi metodi erano basati anzitutto sul confronto di caratteristiche fenotipiche (fisiche), i metodi attuali sono basati fondamentalmente sulle caratteristiche genetiche dei diversi ceppi batterici isolati. Il sistema ideale di tipizzazione è quello che è riproducibile e discriminante e che può differenziare ceppi che non sono correlati epidemiologicamente da ceppi che sono essenzialmente identici o derivati dallo stesso ceppo genitore. Il potere discriminante è la capacità di differenziare tra ceppi non correlati ed identificare ceppi batterici di comune discendenza con variazioni genetiche minori (120). Ulteriori caratteristiche del sistema di tipizzazione ideale includono la facilità d'uso, il basso costo e l'interpretazione non ambigua dei risultati (80, 121).

##### 5.2. Variazioni fenotipiche e strategie di tipizzazione per *P. aeruginosa*

I pazienti CF sono di solito infettati con lo stesso ceppo batterico per molti anni (122). Comunque, *P. aeruginosa* subisce sostanziali modificazioni fenotipiche durante il processo di infezione cronica, che includono: (1) variazioni nella morfologia delle colonie da non mucoide a mucoide (123); (2) variazioni nel lipopolisaccaride (LPS) da liscio a rugoso (124); (3) perdita della mobilità (123); e (4) sviluppo di resistenza a molteplici agenti antimicrobici (125). Questi attributi sono stati ritrovati raramente nei primi isolamenti (126). I primi sistemi per la tipizzazione di *P. aeruginosa* erano basati sulle caratteristiche fenotipiche, come l'agglutinazione da parte dell'antisiero verso LPS (gruppi-O o sierotipizzazione), suscettibilità ai fagi, tipizzazione della piocianina o il profilo di sensibilità antimicrobica (antibiogramma). Questi metodi sono adatti per tipizzare ceppi di *P. aeruginosa* in pazienti con infezione acuta, come pazienti ustionati o neutropenici. Comunque, uno studio multicentrico di ceppi isolati dal tratto respiratorio di pazienti CF ha dimostrato che questi sistemi sono inaffidabili per i ceppi CF (25). Per esempio, la sierotipizzazione può risultare inattendibile poiché molti ceppi CF sono poliagglutinabili, cioè agglutinati da più di uno specifico siero-O, o non tipizzabili, vale a dire non agglutinabili da ciascun siero-O testato (127). Viceversa, Speert et al. hanno trovato che il metodo genetico, i polimorfismi "a restrizione di un segmento"

(RFLP), era altamente riproducibile e discriminava tra ceppi non correlati epidemiologicamente di *P. aeruginosa*, provenienti da pazienti CF (25).

### 5.3. Metodi di tipizzazione molecolare per *P. aeruginosa* e *S. aureus*

RFLP è stato il primo metodo ad essere ampiamente usato per la tipizzazione molecolare di ceppi di *P. aeruginosa* provenienti da pazienti CF (122). Con questo metodo il DNA genomico è estratto dai batteri in questione, digerito con un enzima di restrizione ed i frammenti di DNA sono separati con una elettroforesi. E' poi aggiunta una sonda radiomarcata diretta contro una specifica porzione del genoma batterico per ibridarsi con i frammenti di DNA. Le sonde più discriminanti ed informative sono quelle che reagiscono con una porzione "ipervariabile" del genoma batterico, come ad esempio la sonda per la regione a monte del gene per la esotossina A (exo A) di *P. aeruginosa* (122).

Comunque, gli RFLP sono stati ampiamente soppiantati dalla elettroforesi a campo pulsato (PFGE) e dall'analisi random dei polimorfismi di DNA amplificati (RAPD). La PFGE valuta i polimorfismi genetici nell'intero genoma batterico tramite una "macrorestrizione". Il DNA genomico è estratto e poi digerito con enzimi di restrizione che tagliano il DNA in grossi frammenti (120). Questi frammenti sono separati in base alla dimensione; i frammenti piccoli viaggiano rapidamente sul gel, rispetto ai frammenti grandi, in un campo elettrico costante. I frammenti di DNA sono colorati ed il pattern viene esaminato visivamente o con metodi "assistiti" dall'uso del computer. L'analisi RAPD è basata sulla reazione a catena della polimerasi (PCR) e scatta una "istante" dell'intero genoma batterico (24). Un primer PCR corto (di solito circa 10 basi) viene usato per amplificare a caso sezioni del genoma batterico. I segmenti amplificati di DNA sono poi separati con una elettroforesi, colorati ed analizzati "a vista" o col computer, come per la PFGE. Una ulteriore discriminazione tra isolati batterici è possibile usando diversi primer PCR e/o digerendo i prodotti dell'amplificazione PCR con enzimi di restrizione. La PFGE è ampiamente usata anche per la tipizzazione di *S. aureus*.

### 5.4. Tipizzazione molecolare di *B. cepacia*

Il sistema iniziale usato per la tipizzazione molecolare di *B. cepacia* complex è stato la "ribotipizzazione", con il quale una sonda radiomarcata di RNA ribosomiale è stata utilizzata per esplorare il DNA cromosomico digerito (130). Questo metodo è stato rimpiazzato da PFGE e da RAPD (30, 131, 132). Un altro metodo basato sulla PCR, la tipizzazione PCR per sequenza ripetitiva di DNA (rep-PCR), è stato applicato per tipizzare *B. cepacia* complex (22). Inoltre, diverse coppie specifiche di primers PCR possono essere usate per differenziare tra i vari genomovars (27).

Per determinare se dei patogeni sono stati trasmessi tra diversi pazienti CF, deve essere utilizzato un metodo di tipizzazione genetica. La maggior parte dei metodi di tipizzazione genetica non può essere utilizzato di routine nei laboratori di microbiologia clinica diagnostica. Perciò la CFF ha definito laboratori di riferimento e di ricerca per la tipizzazione molecolare in Canada, USA, Danimarca e Gran Bretagna per i ceppi batterici isolati in CF. Questi laboratori usano una combinazione di metodi per determinare se vari batteri isolati da specifici centri CF appartengono allo stesso od a differenti ceppi. Questi laboratori centralizzati interagiscono fra di loro attraverso networks internazionali, come l' International Burkholderia cepacia Working Group, e sono in grado di definire se ceppi batterici sono stati trasmessi da un paese all'altro (<http://go.to/cepacia>). Tramite gli sforzi di questi laboratori è stato possibile favorire la nostra comprensione della epidemiologia molecolare sia di *P. aeruginosa* che di *B. cepacia* complex.

## 6. Sorveglianza da parte del team del Centro CF e del team del controllo delle infezioni

### 6.1. Componenti dell'attività di sorveglianza generale per il controllo delle infezioni

La sorveglianza, definita come la raccolta continua e sistematica, l'analisi ed il report dei dati per gli operatori sanitari, è il fondamento della prevenzione delle infezioni. Gli scopi fondamentali della sorveglianza sono: il monitorare la colonizzazione/infezione, attraverso il calcolo dei tassi (ad esempio, il numero di persone con colonizzazione o infezione causata da un patogeno "bersaglio" (casi), diviso per il numero di persone a rischio), analizzare le tendenze nel tempo, fornire un feedback agli operatori sanitari, sviluppare interventi ed infine ridurre i tassi di infezione/colonizzazione (43). Autorevoli trattati sul controllo delle infezioni (41, 42, 133, 134) ed articoli di revisione (43, 133) forniscono un eccellente panorama sui metodi di sorveglianza applicati agli ambienti sanitari. Affinché i pazienti ne ricavano un giovamento, ci deve essere una continua analisi ed un adeguato ritorno di informazioni sui risultati della sorveglianza agli operatori sanitari.

Negli ultimi anni strategie di sorveglianza mirata sono state usate negli ambienti sanitari per focalizzare gli sforzi sui pazienti ad alto rischio, i siti di infezione, le procedure invasive e sui microrganismi di maggiore importanza epidemiologica (41, 133). I seguenti fattori dovrebbero essere considerati nel disegnare un programma di sorveglianza: (1) i metodi di coltura; (2) la frequenza di acquisizione, cioè l'incidenza; (3) la durata dello stato di portatore; (4) la modalità di trasmissione; (5) l'impatto clinico dell'infezione, che include la morbilità, la mortalità e le opzioni terapeutiche disponibili; (6) il fenotipo di resistenza antimicrobica; e (7) l'impatto delle strategie di prevenzione come le *precauzioni basate sulla trasmissibilità*, la pulizia e la disinfezione delle apparecchiature respiratorie e le politiche di "segregazione" antimicrobica.

### 6.2. Sforzi di sorveglianza specifica in CF

Per quanto riguarda i pazienti CF, la sorveglianza è basata sull'isolamento di potenziali patogeni nelle secrezioni respiratorie da parte dei laboratori di microbiologia clinica. Sono state pubblicate le raccomandazioni generali per identificare i patogeni respiratori nei pazienti CF (10, 135). Attualmente non ci sono studi, che definiscano l'intervallo ottimale per testare campioni biologici provenienti dall'apparato respiratorio dei pazienti CF. Comunque, l'aumentata frequenza di esami colturali di espettorato può aiutarci a raffinare le nostre conoscenze su incidenza, durata dello stato di portatore, prevalenza e via di trasmissione dei patogeni respiratori (136), ma aumenta anche i costi delle cure. C'è una sempre maggiore evidenza che il precoce rilevamento di *P. aeruginosa* e la relativa terapia possono preservare la funzionalità polmonare (16-18). Reports da parte dell'Epidemiologic Study of Cystic Fibrosis hanno dimostrato che i centri, in cui i pazienti avevano una funzionalità respiratoria nel quartile superiore per l'età, avevano eseguito un maggior numero di esami colturali del tratto respiratorio (137). Dovrebbero essere eseguite colture dell'espettorato programmate, di routine: (1) in tutti i pazienti CF, indipendentemente dalla condizione clinica; (2) nei pazienti CF, che hanno ricevuto un trapianto polmonare o cuore-polmoni; (3) in occasione di riacutizzazioni polmonari; e (4) quando indicato epidemiologicamente, come quando si sospetta una epidemia. L'importanza relativa dei fattori che definiscono i patogeni respiratori epidemiologicamente e clinicamente importanti nei pazienti CF è riassunta nella Tabella 4.

I singoli Centri CF dovrebbero usare i dati forniti al Registro Pazienti della CFF per calcolare l'incidenza annuale ed i tassi di prevalenza per la loro intera popolazione CF, così come per fasce di età, che potrebbero includere bambini di 10 anni o di età inferiore, gli adolescenti fra gli 11 ed i 17 anni e gli adulti di 18 anni o di età maggiore, oppure per diverse aree di cura, come ad esempio i centri per adulti o per pazienti pediatrici. Questa sorveglianza dovrebbe essere eseguita basamente e successivamente alla implementazione delle raccomandazioni per l'uso di terreni selettivi (se non

già usati) e all'uso di più frequenti esami colturali, con la finalità di comprendere il possibile contributo di un "bias di accertamento" dovuto a queste raccomandazioni. Inoltre, la revisione di questi dati sarà essenziale per definire l'efficacia delle nuove pratiche di controllo delle infezioni.

In conclusione, le strategie di sorveglianza per i centri CF includono la determinazione dei tassi di incidenza e prevalenza, dei profili di sensibilità agli antibiotici ed analisi di tendenza per *B. cepacia* complex (23, 102, 138), *S. aureus* (128) compreso MRSA (10, 129, 139, 140) e *P. aeruginosa* compresa *P. aeruginosa* multiresistente (31, 34, 35). La sorveglianza per altri microrganismi, come *S. maltophilia* o NTM, dovrebbe essere implementata se ciò è indicato su base clinica o epidemiologica all'interno del singolo centro. La sorveglianza è incompleta fino a che i dati non sono stati analizzati, i tassi calcolati ed i dati riassunti e diffusi fra coloro che useranno le informazioni per la prevenzione ed il controllo delle infezioni. La frequenza con cui fare rapporto sui risultati dipenderà dalle dimensioni della popolazione CF e dovrebbe essere determinata dal team di cura della CF seguendo le linee guida della CFF e consultandosi con il team per il controllo delle infezioni ospedaliere ed il laboratorio di microbiologia. Per ottimizzare l'accuratezza della sorveglianza e l'efficacia delle strategie preventive implementate in un centro, è raccomandata la collaborazione con i microbiologi clinici ed il team per il controllo delle infezioni, allo scopo di definire e valutare i risultati dei programmi di sorveglianza e gli interventi per il controllo delle infezioni.

**Tabella 4. Caratteristiche cliniche ed epidemiologiche di alcuni patogeni respiratori nei pazienti con CF**

Microorganismo	Prevalenza	Impatto clinico	Persistenza	"Terreno" selettivo	Via di trasmissione*	Precauzioni basate sulla trasmissibilità†	Resistenza multipla	
							Mechanismo	Controllo antimicrobico‡
<i>P. aeruginosa</i>	++++	Significativo	Cronico	No	P, E <sub>TS</sub>	S§	Acquisito	+
<i>B. cepacia</i> complex	+	Significativo	Cronico	Si	P>E <sub>3</sub>	S,C	Intrinseco	+
MSSA	+++	Significativo	Variabile	Si	P>E <sub>3</sub>	S	Acquisito	+/-
MRSA	+	Variabile	Variabile	Si	P>>E <sub>3</sub>	S,C	Acquisito	+
<i>H. influenzae</i>	++	Variabile	Variabile	Si	P	S	Acquisito	+/-
<i>S. maltophilia</i>	++	Variabile	Variabile	Si	E <sub>3</sub> >P	S•	Intrinseco	+
<i>A. xylosoxidans</i>	+	Variabile	Variabile	No	E <sub>3</sub> >P	S•	Intrinseco	+
Virus respiratori	Stagionale	Variabile	No	Si	P>E <sub>3</sub>	S, C; anche D per Influenza, adenovirus	Acquisito	-
<i>Mycobacterium</i> spp								
Non tubercolari	++	Variabile	Variabile	Si	E <sub>3</sub> >>P	S	Acquisito	-
<i>M. tuberculosis</i>	Raro	Variabile	Raro	Si	P	A	Acquisito	-
<i>Aspergillus</i> spp	++	Variabile	Variabile	Si	E <sub>3</sub> >>>PI	S	Intrinseco	-

\* P, da persona a persona; E, reservoir ambientale; E<sub>T</sub>, l'ambiente può fungere come reservoir (acqua, lavabo, terreno, ecc.); E<sub>3</sub>, una superficie ambientale o un oggetto per la cura del paziente che sia stato contaminato da secrezioni respiratorie.

† S, precauzioni standard; C, precauzioni per contatto; D, precauzioni per le goccioline di secrezioni provenienti dalle vie respiratorie; A, precauzioni per agenti trasportati per via aerea.

‡ Strategia di prevenzione potenziale.

§ Aggiungere le precauzioni per contatto quando *P. aeruginosa* è multiresistente.

• Precauzioni per contatto quando l'istituzione ha evidenza di trasmissione da persona a persona.

¶ La trasmissione per via aerea è stata documentata in ambienti ad elevata presenza del microrganismo unita a irrigazione e sbrigliamento di ferite.

## 7. L'uso degli antibiotici nei pazienti CF

Gli antibiotici per via orale, endovenosa ed aerosolica sono usati con grande frequenza nei pazienti CF nello sforzo di migliorare la funzionalità respiratoria e di ritardare la progressione del danno polmonare (141). Le indicazioni per gli agenti antimicrobici sono le seguenti: (1) trattare una esacerbazione polmonare utilizzando due o più antibiotici per via endovenosa (142); (2) prevenire l'infezione cronica da *P. aeruginosa*, usando antibiotici per aerosol o per bocca (83); o (3) usare la tobramicina per aerosol, come terapia di mantenimento per l'infezione cronica da *P. aeruginosa* (143). Nonostante il trattamento antibiotico, i patogeni di solito non vengono eradicati dalle vie aeree dei pazienti CF, e, nel corso del tempo, si sviluppa resistenza agli antibiotici, che limita le

opzioni terapeutiche e rende obbligatorio l'uso di agenti ad ampio spettro, che di solito sono evitati in altri gruppi di pazienti. Finora non vi sono stati studi su programmi di "controllo" antibiotico nella popolazione CF.

Benchè alcuni piccoli studi di profilassi antistafilococcica cronica (con cefalexina) nei bambini di meno di 2 anni, per prevenire le infezioni iniziali da *S. aureus*, siano stati incoraggianti, il più grande e più recente studio randomizzato di profilassi con cefalexina per un periodo fra i 5 e i 7 anni ha dimostrato una significativa riduzione nella colonizzazione da *S. aureus*, ma un significativo aumento nella frequenza di infezione da *P. aeruginosa* e nessun miglioramento clinico significativo, considerando i principali indicatori di salute (144). Per tale motivo non è raccomandata la profilassi antistafilococcica di routine nei lattanti e bambini con CF.

## C.

### ALCUNI PATOGENI RILEVANTI PER I PAZIENTI CF E LA LORO EPIDEMIOLOGIA

#### 1. *S. aureus*, compreso MRSA

##### 1.1. Fattori di virulenza di *S. aureus*

*S. aureus* è spesso il primo patogeno, che colonizza il tratto respiratorio dei pazienti CF, e può essere isolato in tre tipi morfologici: mucoide, non mucoide o una variante a piccole colonie (145-147). Tutti e tre i tipi morfologici, ma specialmente il tipo mucoide, si legano alle mucine respiratorie (148). La colonizzazione dell'epitelio respiratorio CF è ulteriormente favorita da un legame ad alta affinità tra asialoganglioside 1 ed il principale componente della parete batterica stafilococcica, l'acido teicoico (149). *S. aureus* può contribuire alla infiammazione cronica del tratto respiratorio CF attraverso la "sovraesposizione" dell' interleuchina 8 (IL-8), che conduce a chemiotassi neutrofila ed a disregolazione della "presentazione" alle cellule -B dei superantigeni stafilococcici (29, 150).

Nell'era pre-antibiotica, *S. aureus* ed *H. influenzae* erano le principali cause di morbilità e mortalità nei lattanti con CF (151). A partire dal 1944 la terapia con penicillina è stata associata ad una maggiore attesa di vita dei lattanti con CF, prima della quasi universale acquisizione delle beta-lattamasi da parte di *S. aureus* negli anni '50 (151). Oggi l'impatto clinico negativo di *S. aureus* nei pazienti CF è gestito abbastanza efficacemente con le terapie antibiotiche. Vaccini di recente sviluppo contro *S. aureus* (145, 152), uno dei quali è stato dimostrato efficace nel prevenire le infezioni invasive da MSSA e da MRSA in pazienti emodializzati (152), potrebbero avere applicazione future in pazienti CF.

##### 1.2. Epidemiologia di *S. aureus* in pazienti CF

La colonizzazione da parte di *S. aureus* delle narici anteriori è un importante fattore di rischio per la successiva patologia, sia tra pazienti CF che non-CF. I germi responsabili della colonizzazione nasale e gli isolati responsabili di malattia hanno tipicamente lo stesso genotipo (129, 153-155). Goerke et al. hanno trovato che pazienti CF, che non avevano avuto recenti terapie antibiotiche, avevano una prevalenza significativamente più elevata di colonizzazione nasale da *S. aureus*, rispetto a pazienti CF in terapia antibiotica o controlli sani: ciò suggerisce una maggiore predisposizione dei pazienti CF alla colonizzazione (129). In questo studio è stata osservata frequentemente, sia nel gruppo CF che nel gruppo non-CF, la trasmissione di *S. aureus* all'interno delle famiglie e la perdita o la sostituzione del ceppo dopo 1,5 anni. I pazienti CF generalmente ospitano lo stesso clone di *S. aureus* nel tratto respiratorio per almeno 1-2 anni (156).



### 1.3. Prevalenza ed impatto di MRSA nei pazienti CF

Nel corso dei due decenni trascorsi, la proporzione di ceppi di *S. aureus* resistenti alla meticillina (MRSA) e ad altri antibiotici beta-lattamici è aumentata drammaticamente (157). Dapprima MRSA è stato riconosciuto come un patogeno associato alle cure mediche ed acquisito soprattutto da pazienti critici ospedalizzati. Ora la comparsa di infezioni da MRSA al di fuori degli ambienti di cura è stata riconosciuta con crescente frequenza in alcune comunità negli USA, con acquisizione da parte di pazienti privi dei tradizionali fattori di rischio (158-161). I ceppi acquisiti in comunità in pazienti non-CF hanno caratteristiche alla PFGE distinte dai ceppi acquisiti da pazienti ospedalizzati nelle stesse aree geografiche e contengono in modo esclusivo il gene *SCCmecA* di tipo IV, suggerendo una diversa epidemiologia (162, 163). Comunque, molti pazienti con infezione da MRSA acquisita in comunità hanno ricevute cure ospedaliere in un recente passato e c'è un'ampia variabilità dei tassi di prevalenza (164-166). La diffusione da paziente a paziente di MRSA è stata ben documentata negli ospedali, specie nelle terapie intensive (167). MRSA può contaminare le superfici delle stanze ospedaliere di pazienti con MRSA e può contaminare gli indumenti degli operatori sanitari (168).

L'aumento della prevalenza di MRSA è stato meno drammatico tra i pazienti CF rispetto ad altre popolazioni di pazienti, come quelli delle Terapie Intensive e delle case di cura. Il 7 % dei pazienti CF nel Registro CFF (range, da 0 a 22,7% dei pazienti dei vari centri) ha un isolamento di MRSA nel 2001. Uno studio microbiologico, condotto in 69 centri CF negli USA, ha mostrato che il 18,8% degli *S. aureus* era meticillino-resistente (10), laddove percentuali elevate fino al 51% sono state descritte in pazienti non-CF (158). La proporzione di pazienti CF ospedalizzati con ceppi di MRSA è notevolmente più alta (27%) rispetto ai pazienti CF non ospedalizzati, verosimilmente riflettendo differenze di età, severità nell'espressione della malattia, aumentata esposizione agli antibiotici e maggiore acquisizione ospedaliera (169). Pazienti, che possono essere inviati ad altri centri CF per valutazione pre-trapianto o per emergenza e che sono privi di una completa documentazione medica, possono ospitare patogeni multiresistenti, come MRSA, e servire da serbatoio non riconosciuto per la trasmissione ad altri pazienti (H.W. Parker, comunicazione personale).

E' stato studiato l'impatto clinico di MRSA tra i pazienti CF. Miall et al. hanno eseguito uno studio "caso-controllo" tra pazienti pediatriche con CF, per valutare la condizione clinica 1 anno dopo l'isolamento di MRSA (139). I bambini con MRSA avevano necessità di una frequenza significativamente più elevata di cicli di terapia antibiotica per via endovenosa, ma avevano un punteggio radiologico di partenza peggiore, suggerendo che l'appaiamento poteva non essere stato adeguatamente controllato per la gravità del quadro clinico. L'infezione da MRSA non aveva un effetto significativo sulla crescita o sulla funzionalità respiratoria. In un gruppo di pazienti CF adulti, l'acquisizione di MRSA era associata ad un peggiore funzionalità polmonare, e la durata della colonizzazione era frequentemente breve, durando meno di 1 mese nel 35% dei pazienti (170). Ugualmente, Boxerbaum et al. non hanno osservato un deterioramento del quadro clinico in 14 pazienti con MRSA e 10 su 14 presentarono una colonizzazione transitoria (171). Viceversa, Giveney et al. hanno dimostrato che lo stesso clone di MRSA era persistito nello stesso paziente per anni (140). Nello studio di Thomas et al., MRSA non alterava in senso negativo il decorso clinico di 2 pazienti con MRSA al momento del trapianto, né di altri 5 pazienti che avevano acquisito MRSA dopo il trapianto (170). Perciò i dati attuali, che descrivono l'impatto di MRSA sulla funzione polmonare nella CF, sono inconcludenti.

### 1.4. Trasmissione da paziente a paziente di *S. aureus* meticillino-sensibile (MSSA) e di MRSA in pazienti CF

Schlichting et al. hanno descritto la trasmissione di MSSA da paziente a paziente in un campo estivo (128). In questo studio sono stati usati 4 metodi di tipizzazione per paragonare i ceppi di MSSA prima e dopo il soggiorno di 4 settimane in un campo estivo per pazienti FC. 4 su 20

pazienti acquisirono un nuovo ceppo, che era stato osservato in un altro partecipante all'inizio del soggiorno, suggerendo una trasmissione da paziente a paziente di questo stesso ceppo.

La trasmissione ospedaliera di MRSA da pazienti non-CF a pazienti CF e fra pazienti CF è stata descritta e può essere facilitata ospedalizzando i pazienti CF in un reparto di pediatria generale o di medicina interna (140). I pazienti CF sono suscettibili alla trasmissione ospedaliera di MRSA verosimilmente come i pazienti non-CF.

In conclusione, MSSA e MRSA possono essere trasmessi fra pazienti CF e fra pazienti CF e non-CF. Le vie di trasmissione non sono diverse per i ceppi di MRSA e MSSA. Comunque, i ceppi antibiotico-resistenti possono avere un impatto negativo sul decorso clinico e sui costi sanitari. Perciò ai pazienti con CF, che siano colonizzati o infetti da MRSA, devono essere applicate le linee di condotta ospedaliere per prevenire la trasmissione da paziente a paziente di MRSA tra pazienti non-CF (2).

## **2. *P. aeruginosa***

### **2.1. Epidemiologia ed impatto clinico di *P. aeruginosa***

*P. aeruginosa* è il patogeno più importante e prevalente nella popolazione CF. L'acquisizione avviene in quasi tutti gli adulti con CF ed ha un effetto negativo sia sulla funzionalità polmonare che sulla sopravvivenza (17, 172-174).

I bambini con CF e con *P. aeruginosa* hanno una funzionalità polmonare ridotta, un punteggio della radiografia del torace più basso ed una sopravvivenza ridotta di 10 anni rispetto a quelli non infettati da *P. aeruginosa* (173). I bambini CF diagnosticati per screening neonatale dal 1990 al 1992, che erano infettati da *P. aeruginosa*, avevano un punteggio clinico (National Institutes of Health) più basso, un FEV<sub>1</sub> più basso ed un maggior numero di giorni di ospedalizzazione (17). La comparsa del fenotipo mucoido è stato collegato ad un deterioramento della funzionalità polmonare (175-176) e la acquisizione precoce dei ceppi mucoidi è stata associata a mortalità precoce (17). Comunque, un trattamento antimicrobico aggressivo alla prima colonizzazione è associato ad un ritardo della infezione cronica ed ad un migliorato decorso clinico (16,18). Il monitoraggio longitudinale del titolo anticorpale anti-*P. aeruginosa* in pazienti CF diagnosticati attraverso screening neonatale può svelare infezioni polmonari da 6 a 12 mesi prima dell'isolamento del patogeno dalle colture del tratto respiratorio (177). Nel tempo, nel polmone CF, *P. aeruginosa* diviene sempre più resistente agli antimicrobici, rendendo la terapia sempre più difficile (178).

La maggior parte dei pazienti CF mantengono lo stesso clone di *P. aeruginosa* per tutta la loro vita (24,179,180). Comunque, uno stesso individuo può essere infettato con più di un clone (36). Pazienti sottoposti a terapia antibiotica per eradicare *P. aeruginosa* possono ripresentare lo stesso ceppo dopo soppressione transitoria durante il trattamento (181).

### **2.2. Fonti potenziali di *P. aeruginosa***

La provenienza iniziale del contagio per la maggior parte dei pazienti CF rimane sconosciuta. La fonte potrebbe essere l'ambiente o un altro paziente CF o apparecchiature contaminate per la terapia respiratoria, fiale di farmaci, o altri oggetti contaminati da *P. aeruginosa*.

#### **2.2.1. *P. aeruginosa* nell'ambiente ospedaliero**

In molti studi è stato messo in evidenza l'isolamento di *P. aeruginosa* nell'ambiente ambulatoriale ed ospedaliero (182-184). Studi hanno dimostrato che ceppi di *P. aeruginosa* con grande variabilità genetica possono essere diffusi dentro ed intorno a sorgenti di acqua, inclusi lavandini e rubinetti, in reparti pediatrici CF (184,185). *P. aeruginosa* sospeso in soluzione fisiologica può sopravvivere su superfici asciutte per 24 ore, mentre i ceppi mucoidi possono sopravvivere per 48 ore o più a lungo

(182,184). Comunque, *P. aeruginosa* sospeso nell'escreato dei pazienti CF, può sopravvivere su superfici asciutte per più di 8 giorni (184).

Studi effettuati da Zimakoff et al. in ambienti sanitari per pazienti CF hanno trovato *P. aeruginosa* nel 7% di colture ambientali; lavandini, giocattoli, bagni, e saponi erano positivi e 12 (60%) delle 20 colture positive avevano in comune gli stessi fagotipi e sierotipi LPS gruppo-O di quelli trovati nei pazienti (182). Comunque, questi studi possono essere messi in discussione poiché molti ceppi che erano stati considerati essere uguali sono stati tipizzati con sieri policlonali che identificano differenti O-tipi; studi più recenti hanno dimostrato che questi ceppi possono avere genotipi differenti. Allo stesso modo, Speert e Campbell hanno isolato *P. aeruginosa* in 2 (4%) di 48 spirometri e in 14 (11%) di 126 tubature di scarico dell'ospedale (186). 5 dei 14 isolati dai tubi di scarico dei lavandini si sovrapponevano ai sierotipi dei pazienti ricoverati in quella stanza. In questo studio, l'ospedale aveva aperto 3 mesi prima; nel tempo le contaminazioni dei lavandini erano aumentate dal 14% al 66%. Di conseguenza, è possibile che i pazienti CF siano la fonte dei ceppi isolati dalle colture dei lavandini.

Usando il probe *exoA* Woltz et al. hanno esaminato isolati provenienti dall'ambiente ambulatoriale CF. Sono stati evidenziati solo 2 ceppi geneticamente identici di *P. aeruginosa* e questo ceppo non è stato trovato tra i pazienti CF (181). Al contrario, uno stesso ceppo, come documentato dalla PFGE, è stato isolato dai lavandini e dai pazienti durante il ricovero, inclusa almeno una documentata nuova acquisizione di *P. aeruginosa* (184,187). In un ambulatorio CF furono fatte osservazioni simili, che hanno documentato cloni comuni nell'ambiente (es. lavandini) (187). Al contrario, a dispetto della evidenza di ceppi comuni di *P. aeruginosa* tra pazienti CF adulti, questo ceppo epidemico non fu trovato in campioni ripetuti derivati da lavandini, scarichi, toilettes, docce o superfici comuni (35).

*P. aeruginosa* può essere ritrovato nelle mani degli operatori sanitari e dei pazienti. Speert e Campbell hanno dimostrato *P. aeruginosa* su 5 (3%) di 175 campioni provenienti dalle mani dei pazienti (186). Allo stesso modo Zimakoff et al. hanno isolato *P. aeruginosa* in 3 (18%) di 16 campioni di mani di pazienti, ma non sulle mani dei 37 membri dello staff (182). In contrasto con questi rilievi, Doring et al. hanno usato il probe *exoA* e la PFGE per dimostrare che gli scarichi dei lavandini e le mani del personale sanitario erano contaminati con gli stessi genotipi di quelli dei pazienti CF (184). Questi ricercatori hanno effettuato studi sperimentali sul lavaggio delle mani, nei quali le mani dei partecipanti allo studio divenivano contaminate dopo lavaggio in lavandini con tubatura di scarico contaminata (184, 188).

La possibilità di trasmissione attraverso goccioline di secrezioni provenienti dalle vie respiratorie è stata dimostrata ponendo delle piastre di agar entro 1 metro da un paziente CF che tossiva; *P. aeruginosa* è stato isolato da 11/17 (65%) piastre (182). In un altro studio simile la crescita di *P. aeruginosa* è stata messa in evidenza su 1/6 (17%) piastre poste a 40 cm dalla bocca di pazienti CF che tossivano (184).

La vera trasmissione aerea di *P. aeruginosa* non è stata documentata. La dimostrazione di una via di trasmissione aerea richiederebbe l'isolamento dello stesso ceppo di *P. aeruginosa* nell'escreato di un paziente CF e in campioni di aria ottenuti nel corridoio fuori della stanza del paziente oppure nella stanza attigua purchè non ospiti pazienti CF, oppure in 2 pazienti CF che condividono la stessa riserva di aria ma che non hanno contatti l'uno con l'altro o l'uno con i dispositivi di cura dell'altro. Campioni d'aria ottenuti da un ambulatorio CF usando un raccogliore centrifugale di campioni d'aria hanno dimostrato che 1% di CFU erano *P. aeruginosa* (182). Allo stesso modo Speert e Campbell hanno dimostrato *P. aeruginosa* in 3 (6%) di 52 campioni di aria provenienti dalle stanze in cui venivano ricoverati pazienti CF (186). In contrasto, Wolz et al. hanno esaminato campioni di

aria di un ambulatorio CF e non hanno ritrovato *P. aeruginosa* in nessun campione (181). I tempi di sopravvivenza di *P. aeruginosa* in aerosol erano dipendenti dalle caratteristiche del ceppo, dalla luce e dalla umidità; la emivita dei ceppi andava da 3 a 76 minuti (188). E' improbabile che *P. aeruginosa* nello sputo CF rimanga sospeso in aria un tempo sufficiente per essere trasmesso ad altri pazienti che condividono solo la stessa riserva di aria. Quindi, la maggior parte della trasmissione di *P. aeruginosa* avviene attraverso contatti diretti ed indiretti o attraverso la via delle goccioline di secrezioni delle vie respiratorie.

### **2.2.2. Colonizzazione delle ampole nebulizzatrici per aerosolterapia domiciliare**

Sono stati effettuati studi sulla colonizzazione delle ampole nebulizzatrici di pazienti CF. Pitchford et al. hanno ritrovato che 9 (25%) di 36 ampole nebulizzatrici ad uso domiciliare di pazienti CF erano contaminate (62). Rosenfeld et al. hanno esaminato la frequenza di colonizzazione delle ampole nebulizzatrici domiciliari ed hanno trovato che 17 (55%) di 31 ampole di 5 differenti marche erano positive per *P. aeruginosa* e 11 (35%) erano positive per *S. aureus* (63). In aggiunta, 6 (19%) erano positive per Klebsiella, e molte erano colonizzate da microrganismi non comuni in FC. Jakobsson et al. hanno dimostrato la presenza di *P. aeruginosa* (3 di 41 pazienti) o *B. cepacia* (1 di 41 pazienti) nelle ampole nebulizzatrici dei pazienti (61,64). Allo stesso modo Hutchinson et al. hanno trovato *B. cepacia* complex nelle ampole (64).

### **2.2.3. Colonizzazione di vasche per idromassaggio, vasche da bagno, piscine e strumenti per l'igiene dentale**

E' stata valutata la colonizzazione da parte di *P. aeruginosa* di vasche per idromassaggio (vasche per idroterapia), vasche da bagno, piscine e strumenti per l'igiene dentale. Vasche per idroterapia e bagni sono state trovate albergare *P. aeruginosa* mentre le piscine sottoposte a clorazione no (189). Epidemie di follicoliti, lesioni nodulari ed infezioni più serie causate da *P. aeruginosa* sono state associate a vasche ed a idromassaggi nelle comunità e negli ospedali (190,191). Le piscine devono essere sottoposte ad adeguata clorazione, in accordo con le raccomandazioni standard per la prevenzione di *P. aeruginosa* (191). Il materiale per l'igiene dentale può essere colonizzato da *P. aeruginosa*. Jensen et al. hanno dimostrato che un paziente ed il suo strumentario di igiene dentale condividevano lo stesso clone (192). La pulizia standard e le procedure di sterilizzazione/disinfezione di questi materiali preverrebbe la trasmissione paziente-paziente di potenziali patogeni.

## **2.3. Trasmissione di *P. aeruginosa* tra i pazienti FC**

### **2.3.1. Trasmissione di *P. aeruginosa* tra fratelli**

Gli esempi accettati e le migliori documentazioni di ceppi in comune tra pazienti CF si verificano tra fratelli. Speert a Campbell hanno dimostrato che 3 di 4 coppie di fratelli avevano in comune lo stesso sierotipo (186). Thomassen et al. hanno dimostrato che coppie di fratelli presentavano gli stessi sierotipi (193). Usando il DNA-probe *exoA* Wolz et al. hanno esaminato isolati provenienti da 12 coppie di fratelli ed hanno trovato che 7 albergavano gli stessi ceppi (181). Grothues et al. hanno studiato 22 fratelli di 8 famiglie e hanno dimostrato tramite PFGE che i fratelli in 5 famiglie presentavano gli stessi cloni ed in 3 famiglie cloni connessi strettamente (194).

### **2.3.2. Trasmissione di *P. aeruginosa* in ambienti non sanitari tra pazienti CF senza rapporto di parentela**

Ci sono stati molti reports di ceppi in comune tra pazienti CF che erano collegati ad ambienti non sanitari. Usando *exoA* Wolz et al. hanno esaminato gli isolati di 46 pazienti prima e 6 settimane dopo un evento ricreativo (181). Sei di 13 pazienti precedentemente non infettati avevano acquisito *P. aeruginosa*, uno dei quali aveva un ceppo in comune con un paziente precedentemente infettato. Quattro pazienti precedentemente infettati avevano in comune ceppi identici ad altri pazienti. Allo

stesso modo usando PFGE, Ojeniyi et al. hanno esaminato ceppi di *P. aeruginosa* ottenuti da 22 ragazzi ed adolescenti, che parteciparono ad un campeggio invernale della durata di un fine settimana (36). Dopo il campeggio, da 1 a 14 mesi dopo, 5 pazienti precedentemente non infettati albergavano lo stesso clone di *P. aeruginosa*. Questo stesso ceppo era stato trovato in 2 pazienti infettati prima del campeggio. Fluge et al. hanno esaminato gli isolati provenienti da 60 pazienti in Norvegia ed hanno messo in evidenza un grande gruppo di 27 pazienti che condividevano lo stesso ceppo e 13 gruppi più piccoli contenenti da 2 a 4 pazienti con lo stesso ceppo (195). I pazienti nel gruppo grande avevano più probabilmente partecipato a campeggi estivi e corsi, ma avevano minore probabilità di esser stati ricoverati.

### 2.3.3. Trasmissione di ceppi di *P. aeruginosa* in ambienti ospedalieri

Ci sono molti studi effettuati in differenti Centri in tutto il mondo che dimostrano la trasmissione di *P. aeruginosa* da pazienti a pazienti. Durante gli anni '80 un Centro danese ha riportato una epidemia di un ceppo di *P. aeruginosa* multiresistente che è stato tipizzato con la sierotipizzazione ed il fagotipo (37). Gli stessi ricercatori hanno usato la PFGE per esaminare 200 isolati provenienti da 61 pazienti seguiti presso la loro clinica ed hanno ritrovato 2 gruppi di ceppi, a cui appartengono 26 ed 11 pazienti ciascuno (170). Il Centro danese ha inoltre trovato che l'aumento delle misure di controllo delle infezioni era associata con una riduzione della incidenza e della prevalenza delle infezioni di *P. aeruginosa*. Le misure includevano la separazione delle attività ambulatoriali per pazienti con o senza *P. aeruginosa*; l'enfatizzazione dell'igiene, specialmente del lavaggio delle mani per i pazienti e per il personale sanitario, e lo spostamento dell'ambulatorio in ambienti più spaziosi (82-84).

Hunfeld et al. hanno esaminato i ceppi isolati da 30 pazienti CF adulti ed hanno trovato che tutti i pazienti provenienti da un Centro in Germania avevano un unico genotipo e 10 di 12 pazienti di un Centro in Israele avevano in comune 3 cloni predominanti (33). Cheng et al. hanno descritto la diffusione di un clone resistente in un Centro CF nel Regno Unito (31). Questi ricercatori furono messi in allerta sulla possibilità della trasmissione paziente-paziente a causa dell'aumento della resistenza al ceftazidime tra i pazienti, che non avevano mai ricevuto questo farmaco durante un periodo in cui vi era stato largo uso di esso in monoterapia in quel centro. Usando sia la PFGE che il probe per il gene della flagellina dello *P. aeruginosa* si dimostrò che 55(85%) di 65 ragazzi con ceppi resistenti ai betalattamici avevano acquisito il clone, che era stato presente in quell'ambulatorio CF da almeno 6 anni. Il ceppo epidemico non è mai stato isolato da alcuna coltura ambientale. In una coorte di 56 bambini, che erano stati diagnosticati per screening in Australia e che erano stati seguiti fino all'età di 7 anni, Nixon et al. identificarono *P. aeruginosa* in 24 (43%) di 56 ragazzi, 4 dei quali morirono. Questi 4 bambini erano infettati da un ceppo mucoide multiresistente di *P. aeruginosa*, che fu dimostrato avere in comune il pattern PFGE ed era in comune ai ragazzi CF più grandi seguiti nello stesso ambulatorio CF (17).

Farrell et al. hanno esaminato l'acquisizione di *P. aeruginosa* in uno studio randomizzato sullo screening neonatale eseguito in Wisconsin dal 1985 al 1996, sia a Madison (Centro A) che a Milwaukee (Centro B) (196). Essi hanno trovato che la prevalenza di *P. aeruginosa* era più alta nel Centro B rispetto al Centro A (70% vs 48%) e vi era un tempo di acquisizione di *P. aeruginosa* più breve al Centro B. Il tempo di acquisizione di *P. aeruginosa* era più breve in neonati diagnosticati per screening; il tempo in cui erano liberi da *P. aeruginosa* era di 52 settimane (mediana) tra i neonati screenati del Centro B contro 289 settimane tra i pazienti non screenati del Centro A. E' stato ipotizzato che contribuissero alla acquisizione di *P. aeruginosa* nella clinica del Centro B le condizioni di sovraffollamento prima del 1990. Una analisi multivariata determinò che l'assistenza al Centro B prima del Giugno 1990 e l'uso dell'aerosol erano fattori di rischio indipendenti per l'acquisizione di *P. aeruginosa*, mentre era protettivo il più alto livello della educazione materna (197).

Più recentemente 2 gruppi di clinici nel Regno Unito hanno descritto la trasmissione di *P. aeruginosa* tra gli adulti (34, 35). In uno studio prospettico di 154 pazienti, 22 (14%) condividevano lo stesso clone di *P. aeruginosa* multiresistente come dimostrato sia dalla tipizzazione piocinica che dalla PFGE. Questi 22 pazienti erano stati infettati precedentemente con altri ceppi di *P. aeruginosa*. Non vi erano stati contatti al di fuori dell'ambulatorio CF ma quasi tutti erano stati ricoverati almeno una volta nei due anni precedenti. Questo clone non era stato isolato in nessuno dei 24 pazienti infettati contemporaneamente con *B. cepacia complex* e *P. aeruginosa*, che era stati posti in isolamento da 8 anni, ed in nessuno di 52 pazienti non-CF infettati con *P. aeruginosa*. I pazienti infettati anche con *B. cepacia* condividevano le strutture ambulatoriali con altri pazienti CF, ma le visite erano programmate in giorni differenti ed erano ricoverati in differenti reparti. Questo ceppo epidemico non fu isolato da nessuna coltura ambientale né del reparto di degenza né nell'ambulatorio. McCallum et al. hanno descritto 5 pazienti che erano stati superinfettati con un ceppo multiresistente di *P. aeruginosa* (35). Non vi erano state colture ambientali positive per questo ceppo. Questi studiosi hanno concluso che questo ceppo fu acquisito durante il ricovero, dato che i pazienti CF che non erano stati ricoverati non avevano acquisito questo ceppo.

In contrasto con questi dati, altri ricercatori non sono riusciti a mettere in evidenza la trasmissione di *P. aeruginosa* tra i pazienti CF. A Vancouver, Speert et al. hanno studiato 21 pazienti che partecipavano ad un campo scuola estivo e hanno trovato che 5 ragazzi, che non presentavano *P. aeruginosa* all'inizio del campo scuola, rimanevano tali alla fine di esso, sette giorni dopo (198). Speert e Campbell hanno pure studiato 27 pazienti ricoverati, per esaminare la condivisione dei ceppi. Usando il sierotipo, questi ricercatori hanno trovato che tre delle sette coppie di pazienti ricoverati nella stessa stanza avevano una colonizzazione transitoria con sierotipi condivisi, che non persisteva durante i due anni seguenti (186). Analisi successive hanno evidenziato che isolati che apparivano essere identici attraverso la sierotipizzazione erano in realtà differenti quando analizzati con la analisi molecolare (D. Speert, comunicazione personale). Mahenthiralingam et al. hanno esaminato 385 isolati sequenziali da 20 pazienti e trovato solo 1 esempio di ceppi condivisi utilizzando RAPD (24). Nel Regno Unito, Williams ha esaminato 496 isolati da 69 pazienti e non ha trovato evidenza di cross-infezione (199).

In un grande studio prospettico condotto su isolati di *P. aeruginosa*, Speert et al. hanno esaminato almeno tre isolati da ciascuno dei 174 pazienti in cura negli ambulatori CF a Vancouver (British Columbia, Canada) tra il 1981 e il 2000 (200). I batteri sono stati tipizzati con RAPD e PFGE. Per i gruppi di pazienti che erano infettati con lo stesso ceppo di *P. aeruginosa* sono stati messi a confronto la collocazione dell'abitazione, la data di acquisizione e i contatti con altri pazienti (definiti come la contemporanea presenza alla scuola o alla ludoteca dell'ospedale durante i ricoveri, i contatti durante le visite ambulatoriali o i contatti sociali conosciuti). In tutto sono stati identificati 157 tipi genetici di *P. aeruginosa*, 133 dei quali erano unici per ciascun paziente. 24 ceppi erano ciascuno condivisi da più di un paziente; l'evidenza epidemiologica collegava questi individui solo nel caso di 10 fratelli e di una coppia di pazienti non imparentati ma amici stretti. Da questi dati gli autori hanno concluso che nei pazienti CF c'era un rischio estremamente basso a Vancouver di acquisire *P. aeruginosa* da altri pazienti e che contatti stretti e prolungati, così come avviene tra fratelli, sono necessari per il contagio da paziente a paziente.

#### **2.3.4. Trasmissione di *P. aeruginosa* da pazienti CF a familiari non affetti da CF**

C'è stato solo un "case report" che descrive la trasmissione di *P. aeruginosa* da un paziente CF a individui non-CF. In questo report un adulto CF infettato con un ceppo epidemico precedentemente descritto (35) ha trasmesso lo stesso ceppo ai suoi genitori che erano portatori di mutazioni CF differenti. Entrambi hanno sviluppato una polmonite e poi colonizzazione cronica con il ceppo epidemico (201). Comunque, questo ceppo non è stato isolato da colture di tamponi faringei di 51

parenti di altri 23 pazienti, che erano infettati con questo ceppo epidemico. Questo report suggerisce che questo ceppo aveva delle proprietà uniche di virulenza, che meritano studi ulteriori.

#### 2.4. Riassunto della trasmissione di *P. aeruginosa*

Per riassumere, pazienti CF possono condividere gli stessi ceppi di *P. aeruginosa*. È probabile che ceppi differenti abbiano diverso potenziale di trasmissione, come è stato notato per ceppi di *B. cepacia* complex, ma contatti stretti e prolungati facilitano la trasmissione. I dati attuali suggeriscono un ruolo per la contaminazione ambientale da parte di secrezioni infette come potenziale riserva di *P. aeruginosa*. È possibile che condizioni di sovraffollamento e le mani contaminate di operatori sanitari possano facilitare la trasmissione. Sono necessari ulteriori studi epidemiologici, utilizzando metodi standardizzati, per definire il contributo della trasmissione tra pazienti e la potenziale acquisizione ambientale di *P. aeruginosa* tra i pazienti. Dovrebbero essere ottenute colture ambientali solo come parte di uno studio epidemiologico. La documentazione della distanza tra pazienti CF nei reparti così come le attività dei pazienti dentro e fuori i reparti sono necessari per stabilire il meccanismo di trasmissione paziente-paziente. Sinora non ci sono studi che hanno valutato la possibilità di trasmissione di un ceppo di *P. aeruginosa* tra pazienti CF attraverso bagni comuni.

### 3. *B. cepacia* complex

#### 3.1. Tassonomia delle specie di *Burkholderia*

La tassonomia di *Burkholderia* spp è diventata molto complessa, per l'evidenza che isolati di *B. cepacia* sono membri di molte specie batteriche distinte chiamate "genomovar" (202). Ad oggi, ci sono almeno nove distinte specie nel *B. cepacia* complex (Tabella 5) ed almeno 15 altre specie all'interno del genus *Burkholderia*.

**Tabella 5. Composizione del *B. cepacia* complex, 2001**

Specie (genomovar)	Designazione binomiale	Rif. Bibliografici
I	<i>B. cepacia</i>	388
II	<i>B. multivorans</i>	388
III	da assegnare	388
IV	<i>B. stabilis</i>	388, 389
V	<i>B. vietnamensis</i>	388, 390
VI	da assegnare	202, 391
VII	<i>B. ambifaria</i>	202, 392
VIII	<i>B. anthina</i>	393
IX	<i>B. pyrrocinia</i>	393

#### 3.2. Epidemiologia di *Burkholderia* spp. nei pazienti CF

Due centri di ricerca sono stati organizzati in Nord America per definire l'epidemiologia di *B. cepacia* complex nei pazienti CF. Negli Stati Uniti fu fondato nel 1997 il *B. cepacia* Research Laboratory and Repository della CFF (26, 138). Agli operatori implicati con la CF è stato richiesto di spedire gli isolati per confermarne l'identificazione e per stabilire la possibile trasmissione paziente-paziente. Analisi in questo laboratorio hanno contribuito all'identificazione di specie all'interno del *B. cepacia* complex. In uno studio di 606 pazienti CF di 105 città USA, il genomovar III e il *B. multivorans* sono stati quelli isolati più frequentemente, rispettivamente il 50% ed il 38% (27). Tuttavia, dai pazienti CF sono stati isolati tutte le nove specie di *B. cepacia* complex.

Il *B. cepacia* Complex Research and Referral Repository Canadese fu fondato a Vancouver, British Columbia, nel 1994. Da allora sono stati inviati 905 ceppi appartenenti a *B. cepacia* complex, provenienti da 447 pazienti di 8 delle 10 province canadesi (203). Un totale di 80% dei pazienti

erano infettati con il genomovar III e circa il 9% con *B. multivorans*. Sono state documentate sostanziali differenze tra le province.

### 3.3. Decorso clinico associato a *B. cepacia* complex

Le prime descrizioni di *B. cepacia* nei pazienti CF, all'epoca chiamato *Pseudomonas cepacia*, furono fatte alla fine degli anni 70 ed all'inizio degli anni '80 e fornirono le iniziali descrizioni della virulenza di questo patogeno multiresistente (204, 205). La sindrome da *B. cepacia* complex è caratterizzata da febbre alta, batteriemia, rapido deterioramento polmonare e morte dal 62% a quasi il 100% dei pazienti. L'aggiunta di alte dosi di corticosteroidi per via endovenosa alla terapia antibiotica intensiva è stata associata a sopravvivenza in un paziente (206). *B. cepacia* complex viene trovata in elevate concentrazioni nell'espettorato ed ha sopravvivenza elevata sulle superfici (207). L'infezione con *B. cepacia* complex è stata associata ad un declino della funzionalità polmonare e ad una marcata riduzione della sopravvivenza mediana (205, 208-212). C'è evidenza che il genomovar III possa essere il più virulento e più probabilmente possa essere trasmesso da paziente a paziente, ma questo necessita di ulteriori studi (30, 213, 214).

Sebbene un'infezione con *B. cepacia* complex sia generalmente cronica, in alcuni pazienti l'infezione/colonizzazione può essere transitoria o intermittente. La frequenza con cui avviene l'infezione transitoria ed i criteri per confermare l'eradicazione non sono noti. È probabile che siano determinanti fattori non identificati dell'ospite e fattori batterici, ma sono necessari ulteriori studi. La sostituzione di un ceppo con un altro e l'associazione con peggioramento clinico è stato documentato per la prima volta in 5 adulti nel Regno Unito (215). In uno studio recente a Vancouver è stata documentata la sostituzione di *B. multivorans* con ceppi di genomovar III (30). Tale sostituzione è stata associata con peggioramento clinico in alcuni pazienti. In una analisi di isolati raccolti serialmente da 347 pazienti CF, infettati cronicamente da *B. cepacia* complex, è stato notato un cambio del ceppo infettante nel 7.4% (28). Quindi i pazienti infettati con *B. cepacia* complex devono evitare contatti stretti l'uno con l'altro per prevenire l'acquisizione di ceppi potenzialmente più virulenti.

### 3.4. Trasmissione di *B. cepacia* complex tra pazienti CF

Da più di un decennio è stato riconosciuto che *B. cepacia* complex può essere trasmessa da paziente a paziente sia in ambienti sanitari che non sanitari. Nella trasmissione sono ritenuti implicati contatti sia diretti che indiretti con secrezioni infette e il contagio tramite goccioline; i fattori di rischio associati con la trasmissione di *B. cepacia* complex sono riassunti in Tabella 6 (26,76,102, 205, 216, 217). La ribotipizzazione fu il primo metodo utilizzato per evidenziare la trasmissione da paziente a paziente tra i pazienti CF. In alcuni casi l'evidenziazione di trasmissione del ceppo di *B. cepacia* complex, con l'uso di metodi di coltura convenzionali, si è verificata due anni dopo l'esposizione in ambienti non ospedalieri (23). Studi simili sono stati effettuati negli Stati Uniti, ad Edimburgo in Scozia, a Manchester, Inghilterra ed in Ontario, Canada ed hanno portato alla messa al bando dei campi estivi CF in tutto il mondo (102, 219). In uno studio recente, grazie alla tipizzazione molecolare, sono stati documentati sia la diffusione in diverse città di un ceppo del genomovar III, sia la persistenza di questo ceppo epidemico in un grande centro CF per 20 anni (22).

Il contatto con gli ambienti sanitari è stato identificato come fattore di rischio in numerosi studi (193, 217). Sono stati associati con la trasmissione di *B. cepacia* complex la recente ospedalizzazione (217), la scarsa aderenza alla igiene delle mani (217, 220), l'apparecchiatura contaminata per la fisioterapia respiratoria (220, 221) e probabilmente le docce contaminate in ospedale (217, 222). Al contrario, la cura dentaria è improbabile che sia associata con la trasmissione di *B. cepacia* complex. Durante trattamenti dentari, che generavano aerosol, eseguiti su



4 pazienti CF infettati da *B. cepacia*, essa non è stata ritrovata né nei campioni ambientali, né in quelli derivati dal dentista (223).

**Tabella 6. Fattori associati all'acquisizione di *B.cepacia* complex**

Fattori di rischio	Commenti
Partecipare a campi scuola estivi CF (216)	Il rischio di acquisizione aumentava in base al tempo trascorso al campo ed alla prevalenza di <i>B. cepacia</i> nel campo.
- Dormire nella stessa tenda o bungalow	
- Condividere utensili personali (es. posate)	
- Ballare con o abbracciare un partecipante al campo con <i>B. cepacia</i>	
Partecipare a programmi educazionali estivi (23)	3 (20%) di 15 pazienti hanno acquisito lo stesso ribotipo
Partecipare a gruppi CF di adulti (332)	Sono stati aboliti i meetings e contatti sociali
Contatti sociali (102, 332)	
- Baciarsi	
- Contatti intimi	
- Prolungati percorsi automobilistici	
- Corsi di fitness	
- Condividere utensili per bere	
Fratelli con <i>B.cepacia</i> complex (205)	
Stringersi la mano (102, 184, 217, 222)	2/68 colture positive: 1 da paziente e 1 dal ricercatore (217) Le mani dei pazienti si contaminavano dopo la tosse (102)
Esposizioni durante il ricovero	Il rischio di acquisizione è aumentato se ospedalizzati entro 3 mesi e se ospedalizzati a lungo
- Recente ospedalizzazione (205, 217)	Interviste a operatori sanitari hanno evidenziato scarsa
- Uso di doccia specifica	aderenza alle <i>precauzioni per il contatto</i>
- Condividere la stanza con un altro paziente infettato da <i>B. cepacia</i> (217)	
- Essere assistito da uno studente di medicina	
Strumenti per la fisioterapia	I reservoir per le ampole aerosol consentono la crescita di <i>B.cepacia</i>
- Condividere le apparecchiature	
- Strumenti aerosol ospedalieri (227)	
- Spirometri (204)	
- Boccagli (102)	

La vera trasmissione per via aerea di *B.cepacia* complex è meno certa. Ensor et al. hanno studiato 8 pazienti adulti cronicamente colonizzati con *B.cepacia* prima e dopo la fisioterapia respiratoria (224). Prima della fisioterapia il 16% dei campioni di aria erano positivi per *B.cepacia*, ma durante e dopo la fisioterapia, e la conseguente induzione della tosse, erano positivi il 47 e 44% dei campioni di aria; non risultavano positivi i campioni di aria di 3 degli 8 pazienti. E' da notare che i campioni di aria erano prelevati a 1 metro dai pazienti, che è appunto la distanza definita per la trasmissione attraverso goccioline. *B. cepacia* è stata messa in evidenza in tutti i campioni di aria ottenuti da 15 a 45 minuti dopo che il paziente aveva lasciato la stanza. Tutti i campioni ottenuti dopo 60 minuti erano negativi (225). In un ambulatorio CF, *B. cepacia* è stata messa in evidenza con una bassa carica (1 CFU/mm<sup>3</sup>) solo in 2 su 29 campioni di aria ottenuti a circa 1 metro dai pazienti (226). In altri studi basati sul prelievo di campioni d'aria *B. cepacia* non è stata trovata in campioni ottenuti in una stanza in cui pazienti cronicamente infetti con *B. cepacia* tossivano e parlavano (227) o entro 1 metro dai pazienti sottoposti a fisioterapia nella sala d'attesa (102, 217). Benchè *B. cepacia* sia stata isolata in campioni d'aria, la maggior parte degli studi hanno ottenuto campioni entro 1 metro dai pazienti infetti, indicando quindi una via di trasmissione attraverso goccioline. Non ci sono stati reports di trasmissione da paziente a paziente di *B. cepacia* tra pazienti CF che condividevano solo la stessa riserva d'aria. Gli stessi criteri per stabilire l'esistenza della via di trasmissione aerea per *P. aeruginosa*, descritti precedentemente (Sez 2.2.1.), sono applicabili a *B. cepacia*. Così, come per *P. aeruginosa*, la maggior parte della trasmissione di *B. cepacia* complex avviene attraverso contatti diretti ed indiretti o attraverso la via delle goccioline di secrezioni delle vie respiratorie.

### 3.4.1. Fattori di virulenza batterica associati con la trasmissione di *B. cepacia* complex

La trasmissione paziente-paziente del genomovar III è stata associata con 2 markers: i *cable pili* (*cblA*) (228) e il *B.cepacia epidemic strain marker* (BCESM) (131). Il *cblA* è espresso dal clone ET12, uno specifico ceppo di genomovar III che ha causato epidemie in Ontario, Canada, e nel Regno Unito. In Canada, ci fu solo evidenza di un contagio paziente-paziente di ceppi di genomovar III, che presentavano o i *cable pili* o il BCESM (203), e solo ceppi di genomovar III presentavano questi markers di trasmissibilità (30). Comunque, il ceppo ET12 è stato raramente trovato tra i ceppi isolati da pazienti CF negli Stati Uniti e si è verificata la trasmissione di ceppi senza il *cable pili* o il BCESM (22, 27). Quindi, né i *cable pili* né il BCESM sono markers sufficienti di trasmissibilità tra ceppi.

### 3.5. Trasmissione di *B. cepacia* complex tra pazienti non affetti da CF

Sono stati descritte epidemie di infezioni di *B. cepacia* complex a fonte comune, correlate alla contaminazione di prodotti antisettici, avvenuta in fase di produzione (70). Holmes et al. hanno descritto la trasmissione tra pazienti non-CF e pazienti CF in unità di terapia intensiva (220). Studi recenti in pazienti non-CF hanno dimostrato l'esistenza di ceppi epidemici di *B. cepacia* complex, associati con infezioni acquisite in ospedale. Siddiqui et al. hanno descritto una epidemia di 2 anni di un ceppo di genomovar III, che è stato trovato in 17 (85%) su 20 pazienti non-CF ed in 2 (1%) su 200 colture ambientali, che comprendevano un contenitore di lozione per mani ed un tubo di scarico (229). Nessuno dei pazienti CF curati in altri ospedali nella stessa zona è stato infettato con questo clone. Gli interventi di controllo delle infezioni che hanno portato alla fine di questa epidemia includevano: isolamento per tutti i pazienti infettati o colonizzati con *B. cepacia*, educazione per infermieri e fisioterapisti, e rimozione temporanea delle lozioni per mani. Un'altra epidemia di infezione/colonizzazione di *B. cepacia* complex tra 9 pazienti ventilati meccanicamente si pensa sia stata dovuta alla contaminazione di fiale multidose di albuterolo (56). E' da notare che le fiale multidose non venivano sempre eliminate entro 24 ore e le ampolle nebulizzatrici erano inadeguatamente asciugate dopo ogni trattamento. Questi ricercatori hanno postulato che la fiala multidose è stata contaminata per il contatto con un'ampolla nebulizzatrice e asciugata male, che era stata contaminata con *B.cepacia* complex.

Per valutare la trasmissione di *B. cepacia* da pazienti CF infettati a operatori sanitari senza CF, sono stati studiati 7 operatori sanitari, che avevano contatti ripetuti con 3-5 pazienti infettati in un ambulatorio CF (230). Durante un periodo di studio di 3 mesi *B. cepacia* non fu ritrovata in nessuno dei 73 tamponi faringei ottenuti dagli operatori sanitari.

### 3.6. Riserve ambientali di *B. cepacia* complex

Poiché l'aumento delle misure di controllo ha ridotto, ma non eliminato, la nuova acquisizione di *B. cepacia* complex nei pazienti CF, diversi studi hanno esaminato ceppi isolati da varie sorgenti ambientali, allo scopo di identificare possibili riserve di queste specie (231, 232). Mortensen et al. hanno eseguito colture su campioni prelevati in numerosi punti all'interno delle case di 14 pazienti CF e di 13 controlli per cercare possibili riserve (231). Ceppi di *B. cepacia* complex sono stati trovati in 5 di 916 colture: 3 da case dei pazienti CF e 2 da case dei controlli.

*B. cepacia* complex sono batteri commensali del terreno e delle piante. E' probabile che le varie specie di *B. cepacia* complex occupino differenti nicchie all'interno dell'ambiente naturale. Questa distribuzione, comunque, richiede ulteriori approfondimenti. Ceppi di genomovar III sono stati isolati in terreni agricoli (233, 234) e nella rizosfera del mais (235). Recentemente in un campo coltivato a cipolle è stato identificato un ceppo noto per le capacità di infettare persone (236). Comunque, il genomovar III è stato frequentemente isolato da campioni di terreno provenienti da insediamenti urbani (237). Ad oggi, *B. multivorans* non è stato trovato in nessun campione di terreno. Ulteriori studi sono necessari per definire più chiaramente le nicchie in cui *B. cepacia*

risiede. Quindi, il rischio per il paziente CF rappresentato dai ceppi che si trovano nell'ambiente è ancora da definire.

### **3.7. Errata identificazione del *B. cepacia* complex**

I batteri *B. cepacia* complex sono spesso identificati in modo erraneo. In uno studio di 1051 isolati appartenenti a 608 pazienti, seguiti in 91 città USA, 88 (11%) di 770 isolati identificati da laboratori di riferimento come *B. cepacia* complex furono scoperti appartenere ad altro genere o specie. Inoltre, dei 281 isolati identificati come altre specie, 101 (36%) furono identificati come *B. cepacia* utilizzando la genotipizzazione (11). Tale erronea identificazione degli isolati di *B. cepacia* complex può ostacolare gli sforzi per il controllo delle infezioni.

### **3.8. Interventi di successo per il controllo delle infezioni**

Sono stati descritti interventi di controllo delle infezioni efficaci nel prevenire la trasmissione da paziente a paziente di *B. cepacia* (Tabella 7). In generale, sono stati introdotti simultaneamente interventi multipli, rendendo difficile valutare l'impatto relativo di interventi individuali. Questi hanno incluso la segregazione dei pazienti con *B. cepacia* dagli altri pazienti CF; scoraggiare i pazienti CF dal visitare tutti gli altri pazienti durante il ricovero; sottolineare l'importanza dell'igiene delle mani; scoraggiare la socializzazione in ambienti a rischio; educare lo staff e la famiglia; ospedalizzare i pazienti con *B. cepacia* in stanze singole con docce separate; monitorare la decontaminazione ambientale esaminando campioni di acqua prelevati da docce e scarichi; prelevare colture dalle attrezzature di fisioterapia (22, 193, 238, 239). I centri che non hanno praticato la segregazione hanno avuto la trasmissione documentata di cloni epidemici (22, 238, 239). Se tutti i pazienti con *B. cepacia* vengono raggruppati insieme in un unico giorno di visite separati dagli altri pazienti, devono comunque evitare i contatti tra di loro, a causa del rischio di sostituzione di genotipi meno virulenti da parte di nuovi genotipi più virulenti (22, 28, 30, 215).

Ad oggi, non ci sono studi che dimostrino l'efficacia dell'uso di maschere chirurgiche da parte dei pazienti CF nel prevenire la trasmissione da paziente a paziente di potenziali patogeni, ma questi interventi si sono dimostrati utili nella prevenzione della trasmissione aerea di certi agenti infettivi, come l'influenza, la *Bordetella pertussis*, o gli adenovirus, da pazienti non-CF agli operatori sanitari (2, 45). Molti centri hanno ridotto l'incidenza del *B. cepacia* complex senza chiedere ai pazienti di indossare le maschere (193), ma l'efficacia delle maschere non è stata studiata per altri patogeni acquisiti dai pazienti CF.

### **3.9. Sintesi sulla trasmissione di *B. cepacia***

In sintesi, la possibilità di trasmissione delle specie di *Burkholderia* da pazienti CF a pazienti CF è stata ben accertata sia in ambienti sanitari che non. La trasmissione è facilitata da contatti stretti e prolungati tra i pazienti CF, dalla condivisione di attrezzature e da fattori batterici intrinseci che sono, ad oggi, scarsamente conosciuti. Un laboratorio di riferimento può provvedere ad una accurata identificazione di specie ed alla tipizzazione molecolare. Numerosi interventi sono stati attuati con successo per prevenire la trasmissione, ma i contributi relativi di ciascun intervento non possono essere misurati, dato che sono stati attuati in combinazione tra di loro.

**Tabella 7. Interventi di controllo delle infezioni che sono stati associati a ridotta trasmissione di *B. cepacia* complex tra pazienti CF**

Intervento	Riferimento Bibliografico
Sottolineare l'importanza dell'igiene delle mani per i pazienti CF e gli operatori sanitari	182, 193, 238
Educare i pazienti, le famiglie e gli operatori sanitari sui fattori di rischio per la trasmissione di <i>B. cepacia</i> complex	22, 193, 238, 239
Usare stanze singole con docce separate per i pazienti ricoverati con <i>B. cepacia</i> complex*	22, 102, 193, 216, 238, 239, 212
Applicare le precauzioni per il contatto ai pazienti con <i>B. cepacia</i> ricoverati	217, 238
Eliminare ogni socializzazione tra i pazienti CF con <i>B. cepacia</i> e gli altri pazienti CF durante il ricovero.	193
Nessun paziente CF condivida la stessa stanza con altri pazienti CF	238
Sia i pazienti ambulatoriali che quelli ricoverati indossino una mascherina	22
I pazienti ricoverati indossino guanti	22
Migliorare la rilevazione microbiologica	193, 238
Applicare la segregazione all'attività ambulatoriale, cioè i pazienti con <i>B. cepacia</i> complex siano visti in un ambulatorio diverso o in giorni diversi	22, 102, 238, 239
Decontaminare l'ambiente, incluse le apparecchiature respiratorie	22, 182, 193, 238, 239
Monitorare la decontaminazione ambientale (ad es. scarichi, docce, attrezzature per esercizio fisico, dispositivi per fisioterapia)	182, 238
Ridurre i contatti sociali tra i pazienti con <i>B. cepacia</i> complex e gli altri pazienti CF negli ambienti non ospedalieri	102, 193, 238, 239
Prevedere campi estivi separati per pazienti CF con <i>B. cepacia</i> complex +	193
Vietare ai pazienti CF con <i>B. cepacia</i> complex di partecipare ai congressi sulla CF	212, 394

\* Thomassen et al. hanno ricoverato i pazienti con *B. cepacia* complex in un diverso reparto ospedaliero.

+ La cessazione di ogni campo estivo per ragazzi CF è raccomandata.

## 4. Patogeni emergenti

Per sviluppare delle linee guida razionali nei pazienti CF per il controllo delle infezioni per patogeni emergenti, come *S. maltophilia*, *A. xylosoxidans* ed NTM, è fondamentale stabilirne la prevalenza nei pazienti con CF, la patogenicità rispetto alla malattia polmonare CF e la trasmissibilità tra i pazienti CF.

### 4.1. *S. maltophilia* ed *A. xylosoxidans*

#### 4.1.1. Epidemiologia della *S. maltophilia*

*S. maltophilia* è un patogeno intrinsecamente resistente a molti farmaci ed è ben conosciuto perché causa infezioni nosocomiali tra cui sepsi e polmoniti, in particolare in pazienti in terapia intensiva (240-242). È stato dimostrato che l'uso di antibiotici ad ampio spettro, ad esempio i carbapenemici (imipenem e meropenem) e le cefalosporine ad ampio spettro, rappresenta un fattore di rischio per l'acquisizione di *S. maltophilia* (241, 245). Sulla base dei dati disponibili più recenti (9), la prevalenza complessiva di *S. maltophilia* nei pazienti CF americani era dell'8.4%. C'erano differenze significative tra i centri di cura CF; 11 (9%) di 117 centri non hanno riportato nessun paziente con *S. maltophilia*, mentre altri centri hanno riportato una prevalenza fino al 25%. Negli studi su *S. maltophilia* in singoli centri CF, le prevalenze erano più alte di quelle generalmente riportate nel Registro CFF; dal 10% al 25% dei pazienti ospitavano questo organismo (244, 245). Inoltre Burns et al. hanno confrontato la prevalenza di *S. maltophilia* tra i pazienti di 6 anni o più riportati nel Registro CFF con la prevalenza dei bambini di pari età, arruolati in trials sulla tobramicina per aerosol; nel 1996 e nel 1997, rispettivamente il 2.9% e 3.9% dei pazienti nel Registro ospitavano questi organismi, contro il 10.7% dei partecipanti allo studio (10). Queste differenze possono essere dovute ai terreni selettivi ed alle speciali tecniche di coltura usate nei trials clinici (10). Perciò, il Registro CFF dei pazienti potrebbe sottostimare la prevalenza delle infezioni/colonizzazioni da *S. maltophilia*. Non è chiaro se la prevalenza di *S. maltophilia* nei

pazienti CF sia in aumento. Talmaciu et al. hanno esaminato 58 pazienti che hanno contratto *S. maltophilia* dal 1993 al 1997 ed hanno scoperto che l'incidenza annuale era aumentata dal 2.8 % al 6.2 % (246). Questi ricercatori hanno scoperto che il trattamento cronico con antibiotico, per via orale, aerosol ed endovenosa, ed il numero di giorni di somministrazione di antibiotici per via ev costituivano fattori di rischio per l'acquisizione di *S. maltophilia*. L'erronea identificazione di *S. maltophilia* come *B. cepacia* potrebbe spiegare in parte la prevalenza più bassa dei primi anni (247). Lo US B. Cepacia Reference Laboratory può fornire test genotipici di conferma su *S. maltophilia* usando la PCR (248).

#### 4.1.2. Impatto clinico di *S. maltophilia*

I ricercatori hanno usato molte definizioni di patogenicità per determinare se i nuovi organismi emergenti sono realmente patogeni nei pazienti CF. Queste definizioni comprendono l'associazione di microrganismi con: (1) riacutizzazioni respiratorie; (2) declino cronico delle prove di funzionalità respiratoria; (3) aumento della mortalità. Saiman ed Edwards hanno esaminato il Registro CFF tra il 1990 ed il 1997 ed hanno notato tassi aumentati di riacutizzazioni polmonari (definite dall'uso di antibiotici in vena) tra i pazienti con *S. maltophilia* rispetto a quelli infetti con *H. influenzae* oppure *S. aureus* (249). I tassi erano paragonabili a quelli notati nei bambini e negli adolescenti tra i 6 ed i 17 anni, che presentavano infezione da *P. aeruginosa*, ed erano paragonabili ai tassi di riacutizzazione respiratoria nei pazienti di 18 anni o più con infezione da *B. cepacia*.

Numerosi ricercatori hanno tentato di identificare una associazione tra *S. maltophilia* ed il declino cronico delle prove respiratorie e/o la mortalità. Gladman et al. hanno utilizzato 13 pazienti con *S. maltophilia* come gruppo di controllo, per esaminare la virulenza di *B. cepacia* e non hanno notato alcun decesso o declino inaspettato della funzionalità polmonare nel gruppo con *S. maltophilia* (250). Karpati et al. hanno studiato 12 pazienti, che avevano avuto *S. maltophilia* per un periodo superiore a sei mesi (251). Non è stata identificata alcuna differenza nella funzionalità polmonare dopo due anni, ma essa diminuiva tra i 2 ed i 7 anni dopo l'acquisizione. Demko et al. hanno confrontato la sopravvivenza di 211 pazienti con *S. maltophilia* con 471 pazienti le cui colture erano negative per tale patogeno (244). Non c'erano differenze significative nella sopravvivenza dopo 2 anni ma tra i pazienti, che avevano all'inizio una forma grave di malattia polmonare, la sopravvivenza dopo 5 anni era del 40% nei pazienti con *S. maltophilia*, a paragone del 72% tra i pazienti senza *S. maltophilia*. Da notare che il 50% dei pazienti aveva avuto colonizzazioni transitorie con *S. maltophilia*; nessuna delle colture successive era positiva per questo organismo. Lo studio di Saiman et al. non ha dimostrato una differenza nella funzionalità polmonare associata alla presenza di *S. maltophilia*, paragonata con *P. aeruginosa*, ma suggeriva un aumento della mortalità (249). Goss et al. hanno perciò esaminato l'impatto della *S. maltophilia* usando i dati del Registro CFF dal 1991 al 1997 ed hanno scoperto che, dopo una stratificazione per età e funzionalità polmonare, non c'erano differenze significative nella mortalità dovuta a *S. maltophilia* (252).

#### 4.1.3. Epidemiologia di *A. xylosoxidans* in pazienti CF

Nel 1997 la prevalenza di *A. xylosoxidans* nel Registro CFF era soltanto del 2.7%. Comunque i dati di base provenienti dai trials sulla tobramicina per aerosol hanno riscontrato una prevalenza dell'8.7% nei pazienti di 6 anni o più, mentre i dati del Registro riportavano lo 0.5% e l'1.9% di prevalenza in questa fascia d'età, rispettivamente nel 1996 e nel 1997 (4, 5, 10). Saiman et al. hanno esaminato i ceppi isolati inviati al centro di riferimento CF per i test di suscettibilità e di sinergia. Di 114 ceppi identificati come *Alcaligenes* spp, 12 sono stati erroneamente identificati dai laboratori di riferimento e trovati essere *P. aeruginosa* (n=10), *B. cepacia* (n=1) o *S. maltophilia* (n=1) (253). Lo US B. Cepacia Reference Laboratory può fornire test genetici di conferma su *A. xylosoxidans* usando la PCR (254).

#### 4.1.4. Impatto clinico dell'*A. xylosoxidans* nei pazienti CF

La patogenicità di *A. xylosoxidans* nei pazienti CF è scarsamente documentata. Un'associazione tra *A. xylosoxidans* e riacutizzazione polmonare è stata riportata benché la maggior parte dei pazienti presentassero un'infezione anche da *P. aeruginosa* (255, 256). Comunque, non sono stati eseguiti studi che esaminano gli effetti di *A. xylosoxidans* sulla funzionalità polmonare e sulla mortalità nei pazienti CF.

#### 4.1.5. Possibile trasmissione di *S. maltophilia* ed *A. xylosoxidans*

La trasmissibilità di *S. maltophilia* è stata indagata in molti studi. La maggioranza di questi studi hanno tipizzato gli isolati con PFGE e con metodologie basate su PCR per esaminare un singolo centro CF o reparto d'ospedale oppure ceppi isolati sequenzialmente da un singolo individuo (39, 40, 244, 245, 256, 257). In due studi gli isolati erano unici ma lo stesso genotipo generalmente persisteva in ogni paziente (40, 257). Denton et al. hanno isolato numerosi ceppi di *S. maltophilia* dalle case sia dei pazienti colonizzati (20 siti, 36% positive), sia dei non colonizzati (25 siti, 42% positive), dalle corsie degli ospedali (18 siti, 32% positivi) e dai centri CF (4 siti, 17% positivi) (245). Per un anno, i siti all'interno dell'ospedale sono stati colonizzati dallo stesso clone di *S. maltophilia* ed un paziente aveva ospitato lo stesso genotipo di un isolato prelevato da un lavandino d'ospedale, ma quel paziente non era mai stato ospedalizzato. Krewinski et al. hanno esaminato *S. maltophilia* che si trovava nei pazienti di 61 centri CF che partecipavano agli studi clinici sulla tobramicina per aerosol (38). Sei centri avevano 5 o più pazienti colonizzati da *S. maltophilia*. Tre centri avevano pazienti con lo stesso ceppo (una coppia di fratelli e due coppie di persone che non avevano un legame epidemiologico conosciuto). Similmente, Valdezate et al. hanno dimostrato che tre pazienti condividevano gli stessi ceppi di *S. maltophilia* (40).

Relativamente pochi studi sono stati indirizzati all'epidemiologia molecolare di *A. xylosoxidans*. Due studi non hanno identificato una condivisione di ceppi tra i pazienti CF (256, 257). Comunque, un altro studio ha rilevato che due di 8 pazienti con una infezione cronica avevano in comune un singolo genotipo di *A. xylosoxidans*. Sebbene nessuna fonte di contagio sia stata identificata, i pazienti erano stati ricoverati contemporaneamente (39). Krezewinski et al. hanno esaminato l'epidemiologia molecolare dei ceppi di *A. xylosoxidans* provenienti da pazienti di 46 centri CF (38). Questi ricercatori hanno rilevato che 5 di 7 centri con più di 4 pazienti colonizzati da *A. xylosoxidans* avevano coppie di pazienti con lo stesso ceppo. Di questi, due coppie erano fratelli, una coppia erano amici, che erano stati ricoverati contemporaneamente e due coppie non avevano un legame epidemiologico conosciuto.

#### 4.1.6. Sintesi sulla trasmissione di *S. maltophilia* e di *A. xylosoxidans*

In sintesi, la prevalenza di *S. maltophilia* e di *A. xylosoxidans* nei pazienti CF è probabilmente sottostimata dai dati del registro CF. Gli attuali dati suggeriscono che questi organismi potrebbero essere patogeni in pazienti CF e ci sono evidenze di trasmissioni da paziente a paziente. Non sono stati ancora effettuati studi epidemiologici con buon disegno sui fattori di rischio di trasmissione, fattori di rischio di acquisizione e sull'impatto della colonizzazione/infezione. E' particolarmente importante determinare se l'aumentata esposizione ad agenti antibiotici a largo spettro è associata alle infezioni causate da questi organismi.

## 4.2. Micobatteri non tubercolari (NTM)

### 4.2.1. Impatto dei NTM nei pazienti CF e non-CF

E' stata revisionata l'epidemiologia dei NTM nella popolazione generale (258, 259). I NTM causano prevalentemente 4 sindromi cliniche: malattia polmonare, linfadenite, malattie dei tessuti molli e della pelle e disseminazione in persone con la sindrome da immunodeficienza acquisita (260) o con rari difetti dei recettori di gammainterferone (261). Tutte e quattro le

sindromi cliniche sono aumentate di frequenza soprattutto nei soggetti immunocompromessi. Una consensus ha definito i criteri per la diagnosi di malattie polmonari causate da NTM e fornisce le raccomandazioni per il trattamento (262). Sono state riportate epidemie nosocomiali di NTM in pazienti non-CF, dovute ad un' inadeguata disinfezione/sterilizzazione dei presidi medici o alla contaminazione ambientale di farmaci o di presidi medici (263). Non sono state riportate trasmissioni di NTM da paziente a paziente se non tramite presidi medici non adeguatamente puliti e disinfettati (263). E' stata riportata recentemente una epidemia di foruncolosi da NTM, che si è scatenata da una inadeguata pulizia di idromassaggi per piedi in ambiente extraospedaliero (264).

Durante gli ultimi 15 anni si è potuto constatare in maniera sempre crescente che i pazienti CF possono essere infettati/colonizzati con specie di micobatteri. Smith et al. hanno registrato che 7 (3%) di 223 pazienti, osservati in un periodo di 6 anni, avevano la coltura dell'escreato positiva per micobatteri, tra cui 3 con *Mycobacterium tuberculosis* e 3 con NTM (265). Kilby et al. hanno documentato che tra il 1981 ed il 1990, 17 (20%) di 87 pazienti adulti CF, avevano almeno 1 coltura positiva per NTM, 11 avevano il *Mycobacterium avium intracellulare* (MAI), 2 avevano sia il MAI che il *Mycobacterium chelonae*, ed 1 aveva il *Mycobacterium fortuitum* (266). Un altro studio condotto in un singolo centro CF da Aitken et al. ha trovato che 8 (13%) di 64 pazienti CF adulti ospitavano NTM (267). Dal 1988 al 1989 Hjelt et al. hanno trovato che 7 pazienti nei loro centri avevano più di una coltura positiva per micobatteri, mentre altri 6 pazienti avevano soltanto 1 coltura positiva, che si poteva interpretare come una colonizzazione transitoria (268). Dal 1990 al 1994, 8 centri CF Europei e Nordamericani hanno riportato una serie in cui i pazienti venivano prospettivamente screenati per i micobatteri; il tasso combinato per NTM è stato del 13% (andava nei vari centri dal 2.3% al 28.2%)(269). Dal 1992 al 1998, Olivier e colleghi hanno condotto uno studio multicentrico su 986 pazienti CF americani di 10 anni o più ed hanno trovato che la prevalenza di NTM (definita come la proporzione di pazienti con più di 1 coltura positiva per NTM) era di 12.5% (270). Nelle 21 sedi la prevalenza variava dal 5% al 31%. *M. avium* complex era la specie più comunemente isolata (72%), seguita dal *Mycobacterium abscessus* (16%).

#### **4.2.2. Fattori di rischio per NTM nei pazienti CF**

Sono stati valutati nei pazienti CF i fattori di rischio per la colonizzazione/infezione da NTM. Torrens et al. hanno trovato che nei loro centri gli antibiotici per endovena e per aerosol erano fattori di rischio per NTM (271). Negli studi multicentrici di prevalenza, eseguiti da Olivier et al., i pazienti con NTM erano significativamente più vecchi (3.9 anni), avevano una percentuale del valore predetto di FEV1 più alta del 5.8 %, una frequenza di *S. aureus* più alta dell'11.6% ed una frequenza di *P. aeruginosa* più bassa del 10.4%, rispetto ai pazienti senza NTM (270). Questi dati sono stati interpretati come compatibili con un effetto di "sopravvivenza in salute".

#### **4.2.3. Impatto clinico degli NTM nei pazienti CF**

Sono stati riportati casi di NTM, che hanno determinato una malattia polmonare clinicamente manifesta in pazienti CF con risposta alla terapia antimicobatterica (272-274). Studi autoptici e bioptici hanno dimostrato la presenza di granuloma caseoso in pazienti con malattia polmonare causata da NTM (275, 276). Comunque, ci sono dati di pazienti con colture dell'escreato positive per NTM, che non sono stati trattati e non hanno mostrato conseguenze cliniche avverse (274). Nello studio multicentrico riportato da Olivier et al., sono state paragonate le caratteristiche cliniche e demografiche di pazienti che rientravano (n = 25) o non rientravano (n = 103) nei criteri per la diagnosi di malattia da NTM della American Thoracic Society (262). Nessuna differenza, inclusa la funzionalità polmonare, è stata notata tra i due gruppi. Pazienti con colture positive (n=59) sono stati confrontati con pazienti con colture negative (n=100)

e sono attualmente sottoposti a follow-up, per valutare gli effetti della colonizzazione/infezione da NTM sul loro decorso clinico (270).

#### 4.2.4. Trasmissione degli NTM

Ad oggi sono veramente pochi gli studi che hanno utilizzato la tipizzazione molecolare di isolati di NTM nei pazienti CF, per esaminare la possibilità di trasmissioni da paziente a paziente. In uno studio multicentrico di Olivier et al., che analizzava un grande numero di ceppi di NTM, tutti i ceppi di NTM erano risultati unici, con la sola eccezione di una singola coppia di ceppi provenienti da 2 centri (277). In entrambi i casi, le coppie riscontrate sono state ottenute nello stesso giorno e quindi la raccolta o una contaminazione crociata in laboratorio potrebbero spiegare questo riscontro. Sfortunatamente, almeno un membro di ogni coppia di pazienti mancava di produrre un ulteriore campione di NTM ad un test successivo, rendendo impossibile confermare la contaminazione incrociata. Così, questi studi non hanno supportato la trasmissione da paziente a paziente o l'acquisizione di NTM da una sorgente comune. Inoltre, la colonizzazione/infezione da NTM non è correlata con il numero di visite ambulatoriali o di ricoveri, suggerendo che la colonizzazione/infezione è meno probabile negli ospedali. Bange et al. hanno analizzato ceppi di NTM provenienti da 5 pazienti di un unico centro CF ed hanno riportato che tutti i ceppi avevano genotipi unici, e questo indicava che non vi era stata trasmissione da paziente a paziente (278).

#### 4.2.5. Sintesi sulla trasmissione dei NTM

In breve, i pazienti CF sono a rischio di acquisire le specie di micobatteri, la maggior parte dei quali sono NTM. Comunque sono riportati casi di *M. tuberculosis* nei pazienti CF. Perciò i bacilli alcool-acidoresistenti devono essere identificati a livello di specie, per prevenire il contagio da paziente a paziente di *M. tuberculosis* e per avviare una cura appropriata. Il ruolo della terapia contro i micobatteri nei pazienti CF che presentano NTM è poco chiaro ed il rischio della trasmissione da paziente a paziente di NTM è molto basso. Le decisioni sulla cura devono essere prese da caso a caso.

## 5. Funghi e muffe

### 5.1. Epidemiologia e impatto clinico nei pazienti CF

E' ben noto che *Aspergillus* spp. può colonizzare i polmoni dei pazienti CF e che in alcuni pazienti può causare aspergillosi broncopolmonare allergica (APBA). In aggiunta, sono stati riportati rari casi di aspergilloma e di aspergillosi invasiva nei pazienti CF che non avevano ricevuto trapianto di polmoni (279, 280).

La maggior parte degli isolati provenienti da pazienti CF sono *Aspergillus fumigatus*, sebbene alcuni pazienti presentino altri *Aspergillus* spp. e raramente altre muffe. I dati del Registro dei Pazienti CFF indicano una prevalenza annuale del 10.6%, ma i dati di uno studio sulla tobramicina per aerosol hanno dimostrato che 114 (25%) di 465 pazienti di 6 anni o più, erano colonizzati da *Aspergillus* spp., 108 (95%) dei quali erano *A. fumigatus* (10). Durante lo studio, l'acquisizione dell'*Aspergillus* spp. è stata più frequente tra i pazienti trattati con tobramicina per aerosol (18%) rispetto ai pazienti del gruppo placebo (8%), ma essa non è stata associata con ABPA o polmonite da funghi (281). Resta da stabilire l'importanza clinica di questi rilievi associati all'uso a lungo termine di tobramicina per aerosol. Bargon et al. hanno trovato che gli antibiotici di profilassi (sia per bocca che per aerosol) erano fattori di rischio per la colonizzazione da *Aspergillus* spp. tra i pazienti CF adulti, ma non c'era differenza nella funzione polmonare fra pazienti con o senza colonizzazione (282).



I funghi saprofiti diversi da *Aspergillus* spp. sono stati trovati solo nel 2.4 % dei pazienti in uno studio sulla tobramicina (10). Tuttavia uno studio europeo recente ha riportato un'incidenza dell'8.6 % di *Scedosporium apiospermum* in escreti di 128 pazienti CF che sono stati seguiti per un periodo di 5 anni, suggerendo che la frequenza di colonizzazione con questo organismo potrebbe essere sottostimata (283). L'importanza di *Scedosporium* spp. come agente patogeno polmonare in CF è sconosciuta.

La presenza di *A. fumigatus* nelle vie respiratorie può far scattare una risposta immunologica che può determinare l'ABPA. La prevalenza di ABPA in CF è poco definita, in parte a causa della variabilità nel modo di fare la diagnosi di ABPA. Tuttavia, i dati di prevalenza riportati da grossi database multicentrici di pazienti con CF nel Nord America e Europa erano 2% e 7.8% rispettivamente (284, 285) con variazioni regionali segnalate in entrambi gli studi.

### 5.2. Trasmissione di *Aspergillus* spp.

*Aspergillus* spp. è presente ubiquitariamente in natura e perciò non è possibile prevenire completamente l'esposizione a questi funghi. Una vasta concentrazione di spore dei funghi può spargersi nell'aria durante alcune attività come costruzioni o ristrutturazioni all'interno di strutture sanitarie, o il giardinaggio ed il taglio del prato. Perdite d'acqua, che non siano asciugate entro 72 ore, sono una importante fonte di *Aspergillus* spp. all'interno degli ambienti sanitari (44). Devono essere seguite raccomandazioni specifiche per il contenimento della polvere durante i lavori di costruzione o ristrutturazione, per minimizzare l'esposizione alle spore di *Aspergillus* dei pazienti vulnerabili (44, 286).

La trasmissione di *Aspergillus* da paziente a paziente è stata riportata solo una volta. Ciò si è verificato quando un paziente non-CF ricoverato in una Terapia Intensiva aveva subito un trapianto di fegato ed aveva sviluppato una infezione della ferita addominale profonda con *A. fumigatus*. L'infezione estesa, l'elevata concentrazione di microrganismi, l'asportazione di tessuti infetti e le frequenti medicazioni hanno causato una dispersione di spore, come documentato da colture positive di campioni d'aria e alla trasmissione ad altri pazienti in posti distanti (più di due metri) in una Terapia Intensiva a multipli posti letto (287).

## 6. Virus respiratori

Molte malattie del tratto respiratorio sono virali e la maggior parte delle malattie virali hanno un andamento stagionale. L'incidenza varia inversamente con l'età ed i bambini piccoli possono manifestare anche 8 episodi di malattie respiratorie virali l'anno. La maggior parte delle malattie virali sono degli eventi acuti e relativamente modesti, ma malattie più severe si possono verificare nei bambini più piccoli, in quelli che hanno patologie croniche e negli immunocompromessi. RSV, influenza, parainfluenza, adenovirus e rinovirus sono i virus più frequenti che causano infezioni del tratto respiratorio. Questi virus hanno periodi di incubazione relativamente brevi (< 1 settimana) ed il contagio avviene prevalentemente per contatto diretto con persone infette e con oggetti da loro toccati. La trasmissione attraverso goccioline provenienti dalle vie respiratorie ed espulse verso le mucose di individui non infetti entro un metro di distanza è un'importante via di trasmissione per l'influenza e gli adenovirus. Le particelle virali vengono introdotte attraverso le mucose degli occhi e del naso di individui suscettibili e si moltiplicano nell'epitelio respiratorio, interferendo conseguentemente con il normale movimento ciliare e la produzione di muco (2, 45).

I pazienti con CF non sono più predisposti alle infezioni virali del tratto respiratorio rispetto ai non-CF. In uno studio prospettico condotto nell'arco di due anni, Ramsey et al. non hanno notato differenze nella frequenza di infezioni respiratorie virali in pazienti CF in età scolare,

paragonati ai loro fratelli non-CF (288). Allo stesso modo, Hiatt et al. non hanno trovato differenze nel numero di malattie respiratorie nei lattanti CF, paragonati a dei controlli di pari età (289).

Comunque, le conseguenze delle malattie virali respiratorie possono essere più gravi nei pazienti CF che nei pazienti non-CF. Le malattie virali hanno più possibilità di causare infezioni acute del tratto respiratorio più basso, peggioramento della funzionalità polmonare ed ospedalizzazione (172, 289-291) e tale riduzione della funzione polmonare può persistere per diversi mesi nei lattanti (172, 289). Le infezioni respiratorie virali possono predisporre il polmone CF ad infezioni batteriche, sebbene la fisiopatologia di questo processo non sia ben compresa (289, 292, 293). C'è una relazione diretta tra il numero di infezioni virali annue ed il progredire della malattia polmonare nei pazienti CF (291).

### **6.1. Virus respiratorio sinciziale**

L'infezione da RSV è molto frequente nei neonati e nei bambini piccoli, ma causa malattie respiratorie acute in persone di tutte le età (294). Bambini di ogni età con malattie polmonari o cardiache o che sono immunocompromessi possono sviluppare gravi malattie delle basse vie respiratorie associate a notevole morbosità e mortalità. Una grave polmonite a cellule giganti con prolungata diffusione del virus si verifica nei pazienti immunocompromessi (295). L'infezione da RSV procura solo una immunità limitata; perciò durante la vita si possono verificare ripetute infezioni. Ogni anno negli USA 90.000 ospedalizzazioni e 4.500 decessi sono da attribuirsi a malattia da RSV del tratto respiratorio basso sia nei lattanti che nei bambini piccoli (295).

Nei pazienti CF il RSV può provocare gravi malattie acute e una riduzione della funzione polmonare permanente. Abman et al. hanno studiato 48 lattanti con CF, che avevano sviluppato infezione da RSV; 7 lattanti hanno avuto bisogno di una ospedalizzazione prolungata, e 3 di essi sono stati ventilati meccanicamente per insufficienza respiratoria (297). Il successivo follow-up (media: 26 mesi dopo l'infezione da RSV) ha evidenziato che i 7 bambini ospedalizzati avevano sintomi respiratori cronici persistenti e riduzione dello punteggio di Brasfield alla radiografia del torace, rispetto ai 41 bambini che non erano stati ospedalizzati. Hiatt et al. hanno confrontato lattanti CF con dei controlli sani di pari età ed hanno trovato che 7 di 30 lattanti con CF avevano acquisito infezione da RSV, e 3 erano stati ospedalizzati per una media di 9 giorni (289). Nessuno dei controlli era stato ospedalizzato. Dopo 3,2 mesi i lattanti CF con infezione da RSV continuavano ad avere funzionalità polmonare ridotta. Un uguale incremento di morbosità associata all'infezione da RSV in lattanti CF è stata riportata da Armstrong et al. (293).

Le immunoglobuline anti-RSV endovena (RSV-IGIV) ed il palivizumab, un anticorpo monoclonale contro RSV somministrato intramuscolo mensilmente durante la stagione più a rischio per infezione da RSV, sono stati approvati e raccomandati in bambini di età inferiore ai 24 mesi con displasia broncopolmonare o con una storia di prematurità (298). Molti ricercatori hanno suggerito che i lattanti con CF dovrebbero essere considerati candidati primari per studi sulla prevenzione del RSV con immunoglobuline o palivizumab (289, 293, 299). Una sperimentazione sulla sicurezza dell'uso di palivizumab è stata condotta su circa 106 lattanti con CF, ma si è ancora in attesa dei risultati (P. Campbell, comunicazione personale). Studi in pazienti CF con l'utilizzo di un vaccino anti-RSV a subunità sono ancora in corso (300).

Le strategie di controllo delle infezioni, efficaci anche in termini dei rispettivi costi, che hanno dimostrato di ridurre l'incidenza dei contagi ospedalieri da RSV comprendono la conferma in laboratorio dell'infezione da RSV tramite test diagnostici rapidi, il collocare il paziente in una stanza singola o raggruppare i pazienti non-CF, infetti da RSV, con uno staff a loro dedicato, una stretta adesione alle *precauzioni standard* ed alle *precauzioni per il contatto*, uno screening