

***Klebsiella pneumoniae*: ripristino della sensibilità alla colistina grazie all'inattivazione del “resistoma secondario”**



Uno studio pubblicato questo mese su **Scientific Reports** dal team di ricerca guidato

dall'italiano **Luca Guardabassi**, ha dimostrato **per la prima volta**, attraverso un approccio *high-throughput*, la **possibilità di ripristinare la sensibilità verso alcune molecole antibiotiche** alle quali i ceppi patogeni multi-resistenti non erano più sensibili.

In particolare, gli Autori dello **studio hanno identificato i geni necessari ai batteri per crescere in presenza di antibiotici**, misurando il contributo di ogni singolo gene alla resistenza all'antibiotico, e individuando così quelli indispensabili al batterio ***Klebsiella pneumoniae* per sopravvivere in presenza di colistina (CST)**, l'antibiotico usato come ultima frontiera per il trattamento delle infezioni da parte di questo patogeno.

Tramite la costruzione di una *library* con oltre 430,000 inserzioni Tn5 uniche e attraverso la recente tecnica del **Transposon Directed Insertion-site Sequencing (TraDIS)**, un *tool* questo usato per individuare geni essenziali, fattori di virulenza e nuove sequenze target per lo sviluppo di molecole antimicrobiche, sono stati identificati, oltre ai determinanti di resistenza noti, tre set di **geni non essenziali ma che diventano indispensabili per la crescita di *K. pneumoniae* ST258 in presenza di colistina (35 geni), imipenem (1 gene) o ciprofloxacina (1 gene)**. Questi geni implicati nella capacità di crescita del batterio in condizioni di esposizione antibiotica sono stati collettivamente chiamati come “**resistoma secondario**”. Infatti, l'inattivazione del set di geni secondari per la resistenza al CST determinava il ripristino della sensibilità verso questa molecola, **riducendo la minima concentrazione inibitoria (MIC) da 8 a 0.5 µg/ml**, raggiungendo quindi un valore di *breakpoint* 4 volte inferiore a quello stabilito dall'EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing).

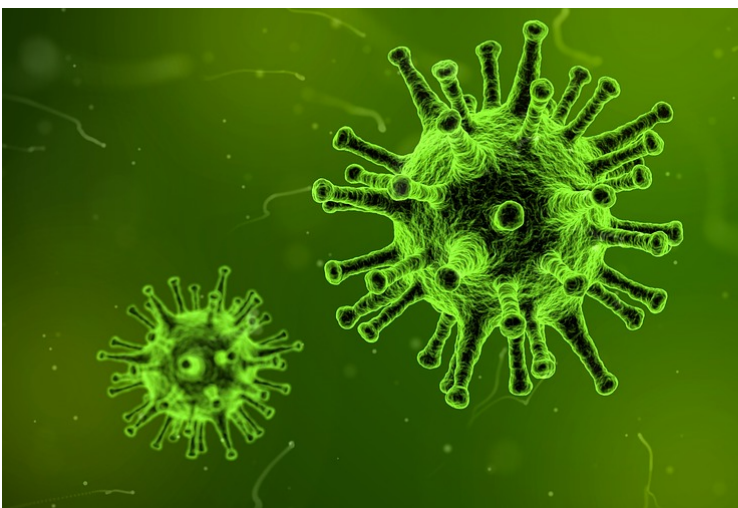
Inoltre, i risultati di questo studio dimostrano che la delezione specifica dei set di geni secondari necessari per la resistenza alla colistina non causava cambiamenti nella MIC verso altre classi antibiotiche, suggerendo quindi una **mutazione antibiotico-specifica**.

Dunque, sebbene siano necessari ulteriori studi sugli esatti processi di regolazione e sul ruolo dei geni non essenziali coinvolti nei meccanismi di resistenza, i risultati di questa ricerca potrebbero porre le basi per utilizzare il **resistoma secondario come possibile target per lo sviluppo di nuove molecole efficaci nel ripristinare la sensibilità agli antibiotici esistenti**.

Per maggiori informazioni clicca qui <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28198411>

Virus creati per attaccare selettivamente le cellule tumorali

Il trattamento del cancro richiede **terapie tumorali selettive** che eliminino le cellule tumorali **preservando i tessuti sani** da danni indesiderati. Uno degli approcci terapeutici più innovativi prevede l'uso di **virus oncogeni**, cioè virus geneticamente modificati per infettare solo le cellule tumorali. Negli ultimi anni diversi studi hanno avuto come obiettivo la creazione, mediante ingegneria genetica, di virus che abbiano un'azione antitumorale massimizzata. Tuttavia spesso all'aumento dell'attività corrisponde un aumento della tossicità. Limitare i danni collaterali sui tessuti sani dovuti all'aumentata tossicità rappresenta



il fattore chiave per l'applicazione di questa nuova terapia virale contro il cancro.

Lo studio pubblicato questo mese su ***Nature Communication***, nato dalla collaborazione tra l'Istituto di Investigazione Biomedica (IDIBAPS) e l'Istituto per la Ricerca in Biomedicina (IRB) di Barcellona, mostra un nuovo approccio per la

creazione di **Adenovirus altamente specifici** contro le cellule tumorali. Il metodo si basa sulla scoperta che il controllo traduzionale dell'mRNA delle proteine **CPEBs** (cytoplasmic polyadenylation element-binding proteins) viene riattivato nelle cellule tumorali. Le CPEBs

sono quattro **RNA-binding protein** che controllano l'espressione di centinaia di geni e mantengono la funzionalità e la capacità di riparare i tessuti in condizioni normali. Gli studiosi hanno evidenziato che la proteina **CPEB4 è altamente espressa in cellule tumorali**, mentre la **CPEB1 è espressa in cellule sane** e persa in quelle tumorali. Questa considerazione ha portato i ricercatori a creare un virus in grado di attaccare le cellule con alti livelli di CPEB4 e bassi livelli di CPEB1, cioè un **virus altamente specifico per le cellule tumorali**.

Lo studio è stato condotto con Adenovirus geneticamente modificati mediante l'inserzione di sequenze regolatrici CPE nella regione 3' non tradotta del gene E1A al fine di controllarne l'espressione a livello post-trascrizionale, modifica che ha portato ad una attività virale attenuata nelle cellule normali e ad una attività virale normale o aumentata nelle cellule tumorali. Lo studio, effettuato su modelli *in vitro* di cancro al pancreas e *in vivo* su modelli murini, ha mostrato che i virus così creati erano attivati dalla CPEB4 e repressi dalla CPEB1 **portando ad una attività virale normale o aumentata in cellule tumorali, e attenuata in cellule sane**. Questo dato è molto interessante perché **la CPEB4 risulta sovraespressa in numerosi tipi di tumori** portando quindi ad un potenziale uso di questo approccio oncosellettivo su diversi tipi di tumore.

I ricercatori, che da anni si occupano di questo argomento, stanno adesso cercando di **combinare la terapia virale con altri trattamenti già usati nella pratica clinica** per massimizzarne ulteriormente l'efficacia.

Per maggiori informazioni clicca qui <http://www.nature.com/articles/ncomms14833>

I nuovi Livelli essenziali di assistenza (LEA): quali sono le principali novità?

Con la pubblicazione in Gazzetta Ufficiale n.65 del **18 marzo di quest'anno entrano in vigore i nuovi LEA** riguardanti la **prevenzione collettiva** e la **sanità pubblica**, l'**assistenza distrettuale e ospedaliera**.

Le regioni devono quindi garantire i nuovi provvedimenti stabiliti, i cui ultimi aggiornamenti risalivano a circa 20 anni fa. Le manovre più importanti riguardano **maggiori tutele per la maternità, l'introduzione gratuita di alcuni vaccini** e più **screening neonatali**.

In particolare, per la prevenzione sono stati introdotti il vaccino per il **Papillomavirus anche nei giovani maschi** e per l'Herpes zooster negli anziani.

Sono stati **rielaborati gli elenchi delle malattie rare** e di quelle croniche le cui spese sono totalmente a carico del Sistema Sanitario Nazionale (SSN). La **celiachia**, ad esempio, è stata inserita nell'elenco delle malattie croniche, così come l'**endometriosi**, per un totale di 6 nuove malattie inserite nella categoria delle **patologie croniche** insieme alla broncopneumopatia cronico ostruttiva, alla sindrome di talidomide, alle malattie renali croniche, all'osteomielite cronica e al rene policistico.

Per i nuovi nati, invece, è stato previsto la possibilità di effettuare uno **screening per molte patologie metaboliche** oltre che per la **cataratta congenita** o la **sordità**.

Nuove prestazioni, come adroterapia (un tipo di radioterapia) o **tecniche avanzate di enteroscopia** sono state introdotte per la specialistica ambulatoriale. Inoltre, **nuove protesi** e tecnologie avanzate e di ultima generazione come sensori di comando, protesi acustiche digitali o nuovi **sistemi e software di comunicazione** sono le maggiori novità per l'assistenza protesica.

La revisione e l'introduzione in tutte le regioni italiane dei nuovi LEA rappresenta un provvedimento storico importante per una maggiore garanzia della salute pubblica dello Stato e, per **assicurare l'esecuzione, è stata istituita una task-force** il cui ruolo sarà quello di **monitorare la corretta applicazione dei LEA** in tutte le Regioni.

Lactobacillus crispatus* inibisce la crescita di *Candida albicans

Alcune **molecole anti-microbiche** prodotte da una specie vaginale di ***Lactobacillus crispatus*** sono in grado di **inibire la crescita, la formazione di ife e l'espressione di alcuni geni di virulenza di *Candida albicans***, uno dei patogeni più comunemente associati alle infezioni vaginali micotiche: questo è il risultato ottenuto da un gruppo di ricercatori cinesi e pubblicato recentemente su ***Frontiers in Microbiology***.

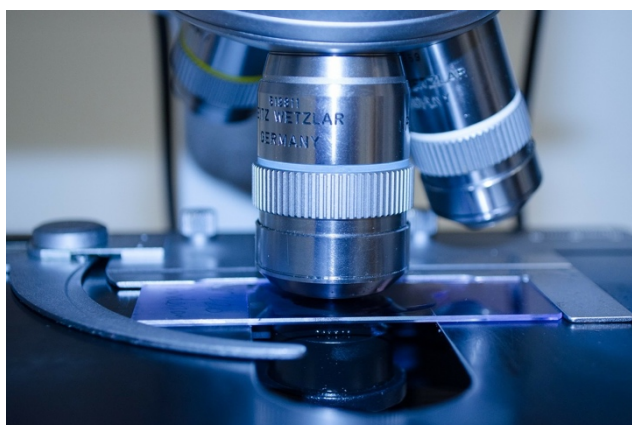
L'ecosistema vaginale, come ormai noto, è popolato da diverse specie batteriche, per lo più da Lattobacilli, il cui ruolo è quello di regolare il corretto equilibrio vaginale e di prevenire alcune infezioni associate a specie patogene opportuniste, le quali però riescono a prendere il sopravvento quando il nostro sistema immunitario risulta compromesso.

In particolare, ***Lactobacillus crispatus* B145**, uno dei commensali più numerosi dell'ambiente vaginale, è in grado di inibire il **processo di formazione delle ife prodotte da *C. albicans***, un processo questo **considerato cruciale nella patogenesi** delle infezioni di questo fungo. Infatti,

la transizione morfologica di *C. albicans* da lievito a ife favorisce la penetrazione all'interno dei tessuti e l'evasione dalle cellule del sistema immunitario, riuscendo così ad instaurare un processo infettivo. Tuttavia, come dimostrato da questo studio, **alcune specie microbiche commensali sono in grado di inibire questo processo.**

Gli Autori di questa ricerca hanno testato *in vitro* gli effetti di tre diverse specie batteriche di lattobacilli, *L. crispatus*, *L. gasseri* e *L. jensenni*, sulla capacità di inibizione non solo della crescita, ma anche dell'espressione di alcuni determinanti di virulenza di *C. albicans* coinvolti nel processo infettivo.

L. crispatus B145, in particolare, dimostrava una significativa attività antimicrobica con una **riduzione di oltre il 60% nella capacità di crescita del fungo patogeno, grazie ad una forte produzione di molecole di perossido di idrogeno e acidi organici.** Inoltre, in presenza di *L. crispatus* B145, i geni *als3*, *hwp1* e *ece1*, responsabili della transizione morfologica di *C. albicans* da lievito a ife, venivano significativamente **down-regolati**, mentre i livelli di espressione del **regolatore negativo NRG1** aumentavano di circa due volte rispetto ai valori basali. I risultati di questo studio, nonostante ancora preliminari, dimostrano dunque, **per la prima volta**, che *L. crispatus* B145 potrebbe essere un **potenziale e promettente candidato probiotico** nella prevenzione e nel trattamento delle infezioni da *C. albicans* perché in grado di inibirne fortemente la crescita e la formazione di ife.



Per maggiori informazioni clicca qui

<http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2017.00564/full>

L'OMS pubblica la lista globale dei patogeni per i quali servono nuovi antibiotici

L'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) ha pubblicato la prima **lista globale di “patogeni prioritari” antibiotico-resistenti** (global Priority Pathogen List, PPL), si tratta di un elenco di 12 specie batteriche che rappresentano la più grande minaccia per la salute umana. La lista è stata stilata da un gruppo di esperti internazionali in collaborazione con la Divisione di Malattie Infettive dell'Università di Tubinga, in Germania, il metodo applicato è stata un'**analisi decisionale multicriterio (MCDA)** che ha permesso agli studiosi di valutare le diverse alternative secondo diversi criteri. Il metodo MCDA infatti incorpora sia il **parere di esperti** sia i **dati basati sulle evidenze** in modo trasparente, esplicito, e deliberativo.

I **criteri valutati** dal gruppo di esperti per la selezione dei patogeni da inserire nella lista sono stati: **letalità delle infezioni** associate; assistenza sanitaria e onere della comunità richiesti



per il trattamento; **frequenza di resistenza** agli antibiotici; **trasmissibilità** tra animali, tra animali ed essere umani e tra persone; possibilità di **prevenzione** in ospedale e comunità (attraverso vaccinazioni o buona igiene); opzioni di

trattamento rimaste ed esistenza di eventuali nuove molecole terapeutiche in fase di studio.

La PPL globale è nata dalla richiesta che gli Stati membri hanno fatto all'OMS di un elenco che li aiutasse a **priorizzare la ricerca e lo sviluppo (R&D) di nuovi ed efficaci trattamenti antibiotici**. La lista, inoltre, ha lo scopo di stimolare i Governi a mettere in atto politiche che incentivino agenzie pubbliche e private ad **investire nella ricerca di base ed avanzata**

L'OMS ha diviso la lista dei patogeni prioritari globali in tre categorie, in funzione dell'urgenza della necessità di nuovi antibiotici: **priorità media, alta e critica**.

Il **gruppo più critico** comprende batteri **Gram-negativi multi-resistenti (MDR)**, i quali rappresentano una seria minaccia **in ambiente ospedaliero, case di cura, comunità e in pazienti il cui trattamento richiede l'uso di dispositivi come ventilatori o cateteri**. Il gruppo 1, a priorità critica include infatti ***Acinetobacter*, *Pseudomonas* e variee**.

Le **categorie ad alta e media priorità** includono invece microrganismi che hanno mostrato una crescente resistenza agli antibiotici e che causano malattie più comuni come la gonorrea e le intossicazioni alimentari da *Salmonella*. *Mycobacterium tuberculosis*, la cui resistenza al

trattamento ha mostrato una notevole crescita negli ultimi anni, non è stato inserito nella lista perché è considerato in altri programmi dedicati. Di seguito una tabella riassuntiva.

OMS lista di patogeni prioritari per la ricerca e lo sviluppo di nuovi antibiotici	
Priorità 1: CRITICA	
<i>Acinetobacter baumannii</i> , carbapenemi-resistente	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , carbapenemi-resistente	
<i>Enterobacteriaceae</i> , carbapenemi-resistente, cefalosporine di terza generazione-resistente, ESBL-produttore	
(<i>Klebsiella pneumonia</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Enterobacter</i> spp., <i>Serratia</i> spp., <i>Proteus</i> spp., and <i>Providencia</i> spp, <i>Morganella</i> spp.)	
Priorità 2: ALTA	
<i>Enterococcus faecium</i> , vancomicina-resistente	
<i>Staphylococcus aureus</i> , meticillina-resistente, vancomicina-intermedio e resistente	
<i>Helicobacter pylori</i> , claritromicina-resistente	
<i>Campylobacter</i> spp., fluorochinoloni- resistente	
<i>Salmonellae</i> , fluorochinoloni-resistenti	
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> , cefalosporine di terza generazione-resistente, fluorochinolone- resistente	
Priorità 3: MEDIA	
<i>Streptococcus pneumoniae</i> , penicillina-resistente	
<i>Haemophilus influenzae</i> , ampicillina-resistente	
<i>Shigella</i> spp., fluorochinoloni-resistente	

Per maggiori informazioni visita i siti:

<http://who.int/mediacentre/news/releases/2017/bacteria-antibiotics-needed/en/>

http://who.int/medicines/publications/WHO-PPL-Short_Summary_25Feb-ET_NM_WHO.pdf?ua=1

Terapia fagica: un'efficace opzione contro le infezioni polmonari croniche da *Pseudomonas aeruginosa*?

Le infezioni polmonari croniche causate da ***P. aeruginosa* nei pazienti affetti da Fibrosi Cistica (CF)** rappresentano un serio problema a causa della difficoltà di trattamento terapeutico dettato dall'insorgenza, sempre più frequente, di **ceppi multi-resistenti (MDR)**. Le limitate alternative terapeutiche disponibili hanno aumentato l'interesse degli studiosi nei confronti dell'utilizzo della **batteriofago-terapia** come **alternativa o complemento alla terapia antimicrobica** tradizionale.

L'uso della terapia fagica nelle infezioni da *P.aeruginosa*, come in otiti croniche e ustioni, ha fatto negli ultimi anni diversi progressi. **Tuttavia i risultati sono stati fin ora limitati.** Recentemente è stato pubblicato su ***Thorax***, una delle principali riviste di medicina respiratoria del mondo, il primo studio che mostra **l'efficacia della terapia fagica sulle infezioni polmonari croniche sostenute da *P.aeruginosa*.**

Gli studiosi dell'Università di Liverpool hanno sviluppato un **nuovo modello murino** di infezione che utilizza una **via di infezione respiratoria naturale tramite inalazione**. In questo modello di infezione, il ceppo di *P.aeruginosa* (LESB65, uno dei più comuni e virulenti cloni isolati da pazienti con CF) si adatta inizialmente alla sua nicchia ospite nel **rinofaringe, migrando e stabilendosi poi nei polmoni**, questo non solo mima perfettamente ciò che accade nell'infezione umana, ma ha anche permesso ai ricercatori di effettuare esperimenti per periodi di tempo più lunghi, oltre 21-28 giorni. L'infezione nel nuovo modello murino è anche associata **all'espressione dei geni coinvolti nella produzione di biofilm**, così come accade nelle infezioni in pazienti con CF, e i batteri adattati all'ospite ed estratti dal modello murino erano più abili nello stabilire infezioni se reintrodotti in un nuovo modello.

I ricercatori, dopo avere avviato l'infezione, hanno effettuato **due tipi di trattamento fagico**: uno dopo **24 e 36 ore dall'infezione** e un trattamento dopo 48 e 60 ore. **In entrambi i casi *P.aeruginosa* risultava completamente eliminata dai polmoni.** I ricercatori hanno poi ulteriormente ampliato il divario tra infezione e trattamento con fago a 6 giorni, dimostrando che la terapia fagica risultava ancora altamente efficace eliminando i batteri dal 70% dei topi e riducendo in modo significativo la conta, rispetto ai controlli, nel restante 30%.

Lo studio dei ricercatori inglesi ha dimostrato per la prima volta che la terapia fagica potrebbe essere altamente efficace nel trattamento delle infezioni croniche respiratorie

persistenti causate da ceppi MDR di *P. aeruginosa* e rappresentare una opzione sicura in un contesto clinico sempre più segnato dall'aumento dell'antibiotico-resistenza.

Per maggiori informazioni clicca qui

<http://thorax.bmj.com/content/early/2017/03/06/thoraxjnl-2016-209265.info>



REMINDER: il 45° Congresso della SIM si terrà a Genova dal 27 al 30 settembre

Si è reso necessario **posticipare le date del Congresso SIM** a causa di un inatteso sovrapporsi con l'evento del Salone Nautico che quest'anno ha anticipato le date della Sua manifestazione rispetto alle edizioni precedenti. Ci scusiamo per il cambiamento, ma ci sembra giusto vivere il nostro attesissimo Congresso in maniera più agevole. Vi aspettiamo a Genova!