

**Ricerca corrente IZS VE 13/10 Indagine sull'epidemiologia di *Clostridium difficile* mediante caratterizzazione fenotipica e biomolecolare di isolati dal cane.**

**Responsabile scientifico:** dott. Fabrizio Agnoletti

## **Abstract**

Le infezioni umane da CD sono storicamente considerate una patologia nosocomiale, tuttavia negli ultimi anni si è assistito ad un cambiamento drastico nell'epidemiologia di quest'infezione con un preoccupante incremento del numero di casi e del tasso di mortalità anche al di fuori dell'ambiente ospedaliero. Questa seconda tipologia d'infezione, definita "community-acquired CDI", vede spesso il coinvolgimento di soggetti considerati non a rischio, fra i quali giovani e donne in gravidanza non sottoposti a terapia antibiotica od ospedalizzazione nei mesi precedenti l'insorgenza dei sintomi. Diverse ipotesi sono state proposte per spiegare questo cambiamento nell'epidemiologia compresa una maggiore esposizione alle spore attraverso il contatto con gli animali da compagnia o da reddito (4). CD è stato infatti isolato in numerose specie animali e studi di epidemiologia molecolare hanno evidenziato una sostanziale identità fra questi ceppi e quelli isolati dall'uomo(1,2,3,7). L'ipotesi di trasmissione animale-uomo necessita però di ulteriori approfondimenti e risulta di particolare rilevanza la definizione del ruolo di carrier degli animali d'affezione. Gli animali da compagnia ed in particolar modo i cani, a causa dello stretto contatto con l'uomo, della condivisione degli spazi e anche alla luce della diffusione di pratiche di pet therapy possono infatti rappresentare un serio fattore di rischio soprattutto per alcune categorie di persone come anziani e immunodepressi (8).

In Italia la problematica delle infezioni da CD negli animali è scarsamente indagata, in particolar modo per quanto riguarda i cani (6, 9). Il progetto si propone pertanto di costituire una collezione di CD isolati dal cane, mediante prelievi effettuati presso canili pubblici o privati o presso ambulatori e cliniche veterinarie della regione Veneto. Nel corso del progetto verranno validati l'utilizzo di una real time PCR per lo screening delle brodocolture positive e di un kit commerciale, attualmente validato solo sull'uomo, per la ricerca di CD e delle sue tossine A e B direttamente dalle feci. A tal fine su tutti i campioni verrà applicato il test di citotossicità, considerato gold standard per la determinazione delle tossine di CD. In tal modo si intende

rendere disponibili metodi di indagine più sensibili e meno costosi rispetto al tradizionale esame colturale e/o utilizzabili a livello ambulatoriale, al fine di agevolare l'individuazione di cani portatori di CD. Dopo la fase preliminare di validazione della real time PCR (5) si passerà all'analisi dei campioni, rappresentati da campioni fecali o tamponi rettali raccolti da cani asintomatici o interessati da patologie diarroiche. Le brodocolture positive allo screening mediante real time PCR verranno ulteriormente processate mediante semina in terreno agarizzato al fine di ottenere colture batteriche pure. I ceppi così ottenuti verranno caratterizzati mediante ricerca delle tossine A, B e binaria. Saranno inoltre determinati il ribotipo ed il tossinotipo, nonché la sensibilità a vancomicina, metronidazolo, moxifloxacina e clindamicina (farmaci critici nella terapia delle CDI). Le informazioni così raccolte verranno comparate con un campione di CD di origine umana, ottenuto da alcuni ospedali della regione Veneto, oltre che con i dati di letteratura disponibili e riferiti alla situazione italiana. Sarà in tal modo possibile valutare l'omologia fra ceppi di CD isolati dall'uomo nel Veneto e ceppi di CD isolati dal cane nella medesima regione. Ciò permetterà di ottenere indicazioni preliminari sulla trasmissione cane-uomo, inclusa la possibilità di trasmissione di resistenze agli antimicrobici.