

Relazione finale 1° anno

Assegno di Ricerca dal Titolo:

“CREAZIONE DI UNA BIOBANCA AD ELEVATI STANDARD TECNOLOGICI PER INDAGINI BIOMOLECOLARI NELL’AMBITO DELLA RICERCA MEDICO SCIENTIFICA”

Primo obiettivo del progetto è stata la progettazione e realizzazione di un’Unità di servizio alla ricerca, ossia di una Biobanca di Ricerca.

La Biobanca del Dipartimento di Scienze Clinico-Chirurgiche, Diagnostiche e Pediatriche (SCCDP) si pone quale strumento a servizio della ricerca in campo biomedico, a disposizione dei ricercatori che potranno sia depositare materiale biologico che fruirne.

La Biobanca non acquisisce la proprietà dei campioni biologici che raccoglie, ma si impegna a conservarli unitamente ai dati clinico/biologici ad essi correlati.

A seguito di valutazioni circa l’idoneità dei locali, è stata scelta come sede l’Unità di Microbiologia e Microbiologia Clinica; le successive indagini hanno dunque riguardato la scelta della strumentazione necessaria all’allestimento del Laboratorio.

Disposizione dei locali

Il locale destinato alla Biobanca è stato ricavato da una riconfigurazione del laboratorio BL3 al piano terra dell’Unità di Microbiologia. Il locale è dotato di un sistema di controllo degli accessi (solo il personale autorizzato ha la possibilità di accedervi) e tutti gli ingressi sono registrabili.

Risorse strumentali necessarie

Per la conservazione dei campioni nonché dei reagenti e del materiale necessario al trattamento dei campioni biologici stessi, la Biobanca è stata fornita di n.1 congelatore a -20°C, n.1 a -80°C, n.1 *tank* di azoto liquido e n.1 frigorifero alla T di +4°C. Tutti i suddetti strumenti di crioconservazione sono stati collegati ad un sistema di allarme in remoto per il monitoraggio continuo della temperatura; tale sistema è stato interfacciato ad un PC dotato di modem con combinatore telefonico che invia tramite sms indicazione di allarme in atto. Tutti gli strumenti sono inoltre dotati di un dispositivo di allarme sonoro utile quando si lavora all’interno della Biobanca o nelle immediate vicinanze.

Data la presenza di una *tank* di azoto liquido, si è reso necessario il monitoraggio costante della tensione di ossigeno nell’aria. In caso di fuoriuscita accidentale di vapori di azoto l’operatore, a lavoro nel locale o in procinto di accedervi, viene allertato da un sistema che segnala sia acusticamente che visivamente il ridotto livello di ossigeno nel Laboratorio.

Per la manipolazione del materiale biologico a basse temperature sono stati previsti i necessari dispositivi di protezione individuali (DPI) quali guanti, grembiule e visiera.

Nel locale adibito a Biobanca era già disponibile una cappa a flusso laminare verticale di classe II ed un bancone dotato di armadio sottostante per la conservazione del materiale monouso necessario alla manipolazione dei materiali biologici. Per il processamento di alcuni campioni biologici e per i controlli di

qualità degli stessi, il Laboratorio è stato dotato di un microscopio ottico e di una centrifuga a più rotori in grado di supportare sia provette da 1.5 mL che tubi con volume massimo di 15 mL.

I materiali conservati devono essere inoltre collegati ai dati anagrafici e clinici relativi ai soggetti da cui deriva il materiale depositato; è stato quindi previsto un sistema di tracciabilità dei materiali ed un sistema informatico gestionale dei dati correlati. L'installazione ed il collaudo di un *software* dedicato all'archiviazione/gestione di tutte le informazioni sono in fase di ultimazione, prevista per la fine della settimana corrente.

Per consentire la tracciabilità ed il corretto stoccaggio e posizionamento dei campioni è stato previsto l'impiego di *criovials* muniti di codice identificativo a barre (2D) con correlato lettore *Barcode Reader*, di scatole dedicate e contrassegnate con il numero del *freezer/tank*.

La strumentazione per l'allestimento della Biobanca è riassunta nella tabella sottostante:

Congelatore -80° C	Congelatore -20° C
PC e monitor	Frigorifero +4°C da banco
<i>Tank</i> azoto liquido	Sistema rilevazione ossigeno nell'aria
<i>Software</i> per creazione banca dati con lettore <i>Barcode</i>	Sistema di monitoraggio continuo degli strumenti con teleallarme
Centrifuga (due rotori e adattatori)	Microscopio ottico
DPI per criogenia (guanti, visiera, grembiule)	Consumabili (<i>criovials</i> con codice 2D, scatole dedicate, micropipette)

Tabella 1. Strumentazione annessa alla Biobanca.

Il 24 giugno 2015 durante il consiglio di Dipartimento la Prof.ssa Laura Pagani quale Responsabile della Biobanca, l'ha dichiarata attiva a tutti gli effetti, invitando i colleghi a presentare iniziative ed a collaborare allo sviluppo del Progetto.

Nel corso di tale seduta sono stati approvati i Componenti l'organico della Biobanca ed i Componenti del Comitato Scientifico (sotto elencati).

RESPONSABILE BIOBANCA	Pagani Laura
RESPONSABILE ARCHIVIAZIONE MATERIALE	Spalla Melissa
RESPONSABILE QUALITA'	Piazza Aurora
COMITATO SCIENTIFICO	Baldanti Fausto Bruno Raffaele Castellazzi Anna Maria Migliavacca Roberta Nappi Rossella Nicoletti Giovanni Sfondrini Francesca

Ad oggi sono stati presentati ed in via di valutazione da parte del Comitato scientifico della Biobanca, n.2 Progetti di ricerca:

- Progetto 1

Titolo: Infezioni sistemiche e/o invasive da patogeni Gram-negativi MDR in pazienti da strutture di lungodegenza e riabilitazione: la realtà dell' ASP "Golgi-Redaelli".

Il responsabile è il Dott. Roberto D'Angelo, responsabile della Direzione Medica Servizi Specialistici presso il laboratorio di Microbiologia Clinica dell'Istituto Geriatrico "Piero Redaelli", Milano.

- Progetto 2

Titolo: Cellule staminali intestinali in pazienti pediatrici celiaci.

Responsabile del progetto è il Prof. Gian Luigi Marseglia: Dipartimento di Scienze Clinico-Chirurgiche, Diagnostiche e Pediatriche, Università degli Studi di Pavia.

In parallelo alle attività volte alla realizzazione della Biobanca, quale Assegnista di Ricerca ho preso parte ad attività inerenti progetti di caratterizzazione molecolare di isolati clinici Gram-negativi multi-antibiotico resistenti.

Ho collaborato inoltre ad una Linea di Ricerca, dal Titolo "Studio idrogeologico e batteriologico del sistema acquifero dell'Oltrepò Pavese: qual è la sorte dei batteri (resistenti agli antibiotici) presenti nelle acque sotterranee e di superficie della nostra realtà", finanziata dalla Fondazione Banca del Monte di Lombardia.

Lo studio ha riguardato l'analisi delle acque di superficie (fiumi), profonde (pozzi) e trattate (depuratori) in zone selezionate dell'Oltrepò Pavese; ci si è concentrati sulla valutazione della presenza di batteri possibili produttori di beta-lattamasi a spettro esteso o di carbapenemasi.

Il lavoro svolto ha permesso la produzione di comunicazioni a congressi Nazionali ed Internazionali, ed alla pubblicazione di due articoli *in extenso*, sotto elencati.

COMUNICAZIONI A CONGRESSO

ECCMID 2015

1. **Clinical Isolation of an *Enterobacter cloacae* Strain Producing the Novel Plasmid-Borne AmpC ACT-24 Variant.** I. Bitar, S. Tonolo, M. Caltagirone, A. Piazza, E. Nucleo, S. Bracco, R. Migliavacca, F. Luzzaro and L. Pagani.
2. **Emergence of the CTX-M-15 *Klebsiella pneumoniae* ST307 Clone in Italy.** R. Migliavacca, M. Caltagirone, M. Corbella, I. Bitar, A. Piazza, M. Stronati, E. Nucleo, P. Micheletti, P. Cambieri, L. Pagani, P. Marone.

ICAAC 2015

1. **Antibiotic Resistance in *Enterobacteriaceae* UTI's Isolates: an Update from the Northern Italy Community.** M. Caltagirone, L. Bellazzi, E. Nucleo, M. Spalla, A. Piazza, I. Bitar, F. Zara, R. Baratto, R. Migliavacca, L. Pagani.
2. **A Travel-Related Case of NDM-5-Producing *Escherichia coli* in Northern Italy.** A. Piazza, I. Bitar, M. Spalla, E. Nucleo, P. Pedroni, R. Migliavacca, L. Pagani.

SIM 2015

1. **Detection of ESBL-Producing Gram-Negative Bacteria from Surface and Ground-Waters in the Po Valley.** A. Piazza, M. Caltagirone, I. Bitar, M. Spalla, R. Brerra, E. Nucleo, R. Migliavacca, G. Pilla, L. Pagani.

AMCLI 2015

1. **Ceppi clinici Italiani di *Acinetobacter baumannii* ST78: un'ipotesi di evoluzione da multi-antibiotico resistenza a resistenza estesa.** Bitar I., Gaiarsa S., Piazza A., Corbella M., Sasserà D., Migliavacca R., Scaltriti E., Marone P., Pagani L.

2. **Valutazione del test fenotipico *Carbapenem Inactivation Method* (CIM) per l'identificazione di isolati clinici Gram-negativi carbapenemasi-produttori.** Caltagirone M., Spalla M., Piazza A., Bitar I., Nucleo E., Zara F., Luzzaro F., Pagani L., Migliavacca R.

DESENZANO 2015

1. **A Travel-Related Case of NDM-5-Producing *Escherichia coli* in Northern Italy.** A. Piazza, I. Bitar, M. Caltagirone, M. Spalla, E. Nucleo, R. Migliavacca.

PAPER

1. **Detection of an IncA/C plasmid encoding VIM-4 and CMY-4 β -lactamases in *Klebsiella oxytoca* and *Citrobacter koseri* from an inpatient in a cardiac rehabilitation unit.** Caltagirone M, Bitar I, Piazza A, Spalla M, Nucleo E, Navarra A, Migliavacca R. *New Microbiol.* 2015 Jul;38(3):387-92.
2. **Emergence of *Escherichia coli* Sequence Type 131 (ST131) and ST3948 with KPC-2, KPC-3 and KPC-8 carbapenemases from a Long-Term Care and Rehabilitation Facility (LTCRF) in Northern Italy.** Piazza Aurora, Caltagirone Mariasofia, Bitar Ibrahim, Nucleo Elisabetta, Spalla Melissa, Fogato Elena, D'Angelo Roberto, Pagani Laura, Migliavacca Roberta. *Adv Exp Med Biol.* 2016 Jan 26. [Epub ahead of print].