

OPINIONI

di EUGENIO A. DEBBIA

Microbiologia Medica, la nostra Rivista, ha da tempo qualche problema di identità, cosa che del resto era già stata messa in evidenza in diverse occasioni sia da molti soci, sia in precedenti "opinioni". Non posso ritornare su quanto già detto e arrivo pertanto al punto.

La Rivista dovrebbe puntare sulla qualità, darsi perciò un Comitato Editoriale con esperti nei vari settori ai quali inviare i manoscritti. Dopo esame attento, sulla base del giudizio il lavoro potrebbe essere inviato direttamente alla stampa o dopo le eventuali modifiche richieste all'autore/i, come si procede di solito in tutte le Riviste scientifiche di un certo livello. Si tratterebbe ovviamente di una critica costruttiva, pur adottando una certa rigosità di giudizio sulle metodiche adottate o sulla citazione delle linee guida seguite per ottenere i risultati. È possibile che introducendo regole più restrittive molti lavori si perdano per strada penalizzando ancora di più una situazione difficile. È un rischio che tutti dobbiamo correre nell'interesse dell'AMCLI e della sua Rivista.

Il criterio andrebbe esteso anche al materiale inviato per il Congresso Nazionale, anche in questa occasione i riassunti dovrebbero come è ormai consuetudine in tutti i congressi essere suddivisi in minisezioni con un'introduzione o razionale e scopo, metodi, risultati e conclusioni. I riassunti, ma soprattutto i poster, in sede congressuale dovrebbero subire un giudizio con invito ad una trasformazione in lavori per quelli interessanti e per gli altri esprimere comunque una valutazione di merito. È opportuno che la Rivista riguadagni quanto avevano messo in conto i fondatori e cioè di essere un punto di riferimento, un'opportunità di confronto e di maturazione professionale. L'altra cosa, a mio avviso, di grande importanza riguarda la professionalità dei

Microbiologi. Pur non essendo a conoscenza di tutta la normativa che regola il percorso di un Microbiologo Clinico all'interno di una struttura ospedaliera, mi chiedo spesso con quali criteri gli amministratori decidano di affidare compiti di responsabilità in un laboratorio ad un candidato piuttosto che ad un altro. È chiaro che dal punto di vista della qualità se un professionista deve scegliere dei collaboratori che diano almeno un minimo di valenza alla struttura che dirige dovrebbe esaminare il curriculum scientifico e professionale del candidato, non solo i corsi che ha seguito e l'esperienza fatta ma sicuramente le pubblicazioni che, a mio modesto parere, sono le uniche in grado di attestare la preparazione scientifica di un candidato. Non è sufficiente stare in un laboratorio per anni per fare di un addetto un professionista capace. Non si tratta ovviamente di richiedere quello che non è previsto per un operatore che è inserito nella diagnostica di routine, ma almeno una documentazione minima che attesti una certa esperienza fatta con continuità. A meno che qualcuno pensi che i crediti raccolti mediante gli attuali corsi ECM siano più qualificanti di qualsiasi altra esperienza. In tal senso l'AMCLI dovrebbe intervenire presso le Autorità.

Si parla finalmente di attribuire alle pubblicazioni scientifiche un certo numero di crediti, sono certo che alcuni preferiranno arricchire gli organizzatori dei corsi, anche se costosi, piuttosto che scrivere lavori, ma sono altrettanto certo che molti decideranno che almeno una volta all'anno valga la pena di pensare al proprio lavoro come a qualcosa di scientifico e di grande responsabilità verso tutti coloro che condividono le stesse esperienze e che utilizzano il laboratorio di Microbiologia Clinica per la diagnosi.

BIBLIOGRAFIA *selezionata*

VIROLOGIA

a cura di GIGLIOLA FLAMMINIO

Clifford GM, Polesel J, Rickenbach M, Dal Maso L, Kaiser O, Kofler A, Rapiti E, Levi F, Jundt G, Fisch T, Bordoni A, De Weck D, Franceschi S, Swiss HIV Cohort. Cancer risk in the Swiss HIV Cohort Study: associations with immunodeficiency, smoking, and highly active antiretroviral therapy. *J Natl Cancer Inst.* 2005 Mar 16; 97(6): 407-9.

Persone infette con virus immunodeficienza acquisita (HIV) hanno avuto un aumento di rischio per alcuni tipi di tumori, ma le influenze dei fattori di rischio come il fumo o uso di droghe per via endovenosa e terapia antiretrovirale in corso (HAART) sui rischi di aumento di sviluppare tumore non sono chiari.

I pazienti reclutati nello studio sono 7304 ed i relativi rischi per l'incidenza tumorale sono stati comparati a quelli presenti nella comune popolazione secondo l'incidenza in base

all'età, al sesso, alle abitudini socio-sanitarie secondo un indice (SIRs). SIRs molto elevati sono stati confermati in persone infette con HIV per il sarcoma di Kaposi (SIR=192) ed il linfoma non-Hodgkin (SIR=76.4). SIRs elevato in modo statisticamente significativo è stato osservato per il cancro dell'ano (SIR=33.4), per il linfoma di Hodgking (SIR=17.3), per il cancro della cervice (SIR=8.0), del fegato (SIR=7.0), della bocca e prime vie respiratorie (SIR=4.1), del polmone e dei bronchi (SIR=3.2) e della pelle non melanomatoso (SIR=3.2). Nei pazienti che seguivano la HAART il rapporto SIRs per il sarcoma di Kaposi (SIR=25.3) e per il linfoma non Hodgking (SIR=24.2) era più basso rispetto a quelli che non seguivano questa terapia. Non erano evidenti differenze per quanto riguarda le altre patologie tumorali tra gli HAART-terapia e non. Nei non fumatori non erano evidenziati tumori dei polmoni, della bocca e della faringe. Si può dunque concludere che, in persone infette con HIV, la HAART può diminuire, in corso di AIDS, i rischi di patologie tumorali come il sarcoma di Kaposi o il linfoma non-Hodgking mentre non determina alcuna protezione nei confronti delle altre patologie

tumoral.

Healey SM, Aronson K, Mao Y, Franco EL. Human papillomavirus and cervical dysplasia in Nunavut: prelude to a screening strategy. *Int J Circumpolar Health*. 2004; 63 Suppl 2: 199-201.

Nel Nunavut (Canada) per determinare il rapporto fra prevalenza del tumore da papillomavirus (HPV) e lesione squamosa intraepiteliale (SIL) si è deciso di studiare i dati sulla popolazione in modo da valutare la necessità di uno screening "quasi obbligatorio" a tutela della popolazione femminile. Lo studio è stato condotto in 19 comunità nel Nunavut sulla popolazione sottoposta a Pap-test. La prevalenza del tumore da HPV in 1,290 donne in età da 13 a 79 anni è stata del 26% mentre quella del SIL del 7.2%. Oltre il 90% delle donne con lesione squamosa intraepiteliale era positiva al test per HPV. Oltre il 75% di donne positive per HPV ma negative per il SIL erano al di sotto dei 30 anni.

Zerr DM, Meier AS, Selke SS, Frenkel LM, Huang ML, Wald A, Rhoads MP, Nguy L, Bornemann R, Morrow RA, Corey L. A population-based study of primary herpesvirus 6 infection. *N Engl J Med*. 2005 Feb 24; 352(8): 753-5.

Indagini sierologiche indicano che il virus umano dell'herpes 6 (HHV-6) infetta il 90% dei bambini nei primi due anni di vita. Poco è noto sull'acquisizione, il decorso virologico e le manifestazioni cliniche del virus. Gli autori hanno deciso di studiare 277 bambini dalla nascita ai primi due anni di età per definire il momento del contatto con HHV-6. La saliva dei bambini è stata testata ogni settimana per la ricerca del DNA virale con un test di PCR (Polymerase Chain Reaction). È stata chiesta la collaborazione dei genitori per evidenziare qualunque sintomo di malattia nei bambini. L'infezione primaria da HHV-6 avvenne in 130 bambini con una percentuale del 40% entro i 12 mesi e del 77% entro i 2 anni di età. Il picco dell'infezione primaria fu evidenziato fra i 9 ed i 21 mesi. C'era maggiore facilità di infezione nel sesso femminile ed in presenza di fratelli più vecchi. Nell'infezione primaria il 93% dei bambini presentava sintomi come febbre, irrequietezza, diarrea, reazione orticarioide ed il 38% era stato visitato da un pediatra. In conclusione si può affermare che l'infezione primaria da HHV-6 nel bambino è sintomatica nella maggioranza dei casi ed inoltre la presenza di fratelli maggiori appare come un fattore di potenziamento nella trasmissione di infezione da HHV-6.

Hausler M, Sellhaus B, Scheithauer S, Engler M, Alberg E, Teubner A, Ritter K, Kleines M. Murine gammaherpesvirus-68 infection of mice: A new model for human cerebral Epstein-Barr virus infection. *Ann. Neurol*. 2005 Mar 22; 57(4): 600-603.

L'infezione da virus Epstein-Barr può causare gravi complicazioni neurologiche. In questo studio gli autori mostrano come l'inoculazione nasale di HHV-68, un gammaherpes virus murino, in topi neonati BALB/c wild-type sia in grado di causare una infezione cerebrale con una infiammazione nel 50% degli animali inoculati. Il meccanismo infiammatorio è simile a quello conosciuto per il virus Epstein-Barr, caratterizzato da idrocefalo, meningite, interessamento cerebellare ed encefaliti focali o diffuse nel lobo temporale. Questo studio apre una nuova strada per lo studio delle caratteristiche virologiche ed immunologiche delle infezioni da gammaherpes virus cerebrali.

ANTIMICROBICI

a cura di **SERGIO FRUGONI**

Keam SJ, Perry CM. - Prulifloxacin. - *Drugs*. 2004; 64(19): 2221-34; discussion 2235-6

Ampia e completa del farmaco. Vengono descritti diversi aspetti della molecola: profilo farmacodinamico, profilo farmacocinetico, efficacia terapeutica, tollerabilità, somministrazione, dosaggio e durata del trattamento farmacologico.

Akita M, Shibasaki Y, Izumi M, Hiratsuka K, Sakai T, Kurosawa T, Scindo Y. - Comparative assessment of prulifloxacin, sparfloxacin, gatifloxacin and levofloxacin in the rabbit model of proarrhythmia. - *J Toxicol Sci*. 2004 Feb; 29(1): 63-71

La somministrazione di certi chinolonici è stata associata con il prolungamento dell'intervallo QT sull'elettrocardiogramma e in rari casi, di aritmie ventricolari. Dai dati sperimentali in modelli animali, prulifloxacin e levofloxacin non hanno mostrato prolungamenti dell'intervallo QT e nessuno degli animali trattati ha mostrato aritmie, contrariamente a sparfloxacin e gatifloxacin.

Piccolo R, Brion N, Gualano V, Millerioux L, Marchetti M, Rosignoli MT, Dionisio P. - Pharmacokinetics and tolerability of prulifloxacin after single oral administration. - *Arzneimittelforschung*. 2003; (3): 201-5

Studio farmacocinetico di prulifloxacin in un campione di popolazione caucasica di sesso maschile. I risultati dello studio suggeriscono, nelle infezioni delle vie urinarie, un'unica somministrazione giornaliera del farmaco. Si sottolinea però che tre somministrazioni giornaliere del farmaco danno risultati migliori.

Araake M, Hara T, Watabe H, Nishino T. - In vitro antibacterial activity of prulifloxacin, a new oral fluoroquinolone. - *Jpn J Antibiot*. 2002 Dec; 55(6): 778-90

Studio comparativo dell'attività in vitro di prulifloxacin, ciprofloxacina, levofloxacin, gatifloxacin, tosufloxacina e feroxacin. I chinolonici in studio sono stati testati nei confronti di microrganismi Gram positivi e Gram negativi. Prulifloxacin ha mostrato un'elevata attività nei confronti di Pseudomonas aeruginosa. Nei confronti di E. faecalis, S. aureus meticillino sensibile e S. pneumoniae, ha mostrato valori di MIC 80 rispettivamente di 4, 0.5, 2 mcg/mL.

SARS-CITOMEGALOVIRUS -EPATITI-

a cura di **VALERIA GHISSETTI**

Mazzaro C, Tirelli U, Pozzato G. Hepatitis C virus and non-Hodgkin's lymphoma 10 years later. *Dig Liver Dis* 2005 Apr; 37(4): 219-26.

Revisione dei meccanismi eziopatogenetici, molecolari, clinici ed epidemiologici alla base dell'associazione tra infezione da virus dell'epatite C (HCV) e linfomi. Si fa riferimento all'associazione con sindromi linfoproliferative, linfomi B di tipo non-Hodgkin a malignità bassa, intermedia ed alta, linfomi non dolenti e crioglobulinemia mista di tipo II

in cui la prevalenza dell'infezione da HCV va dal 7.4 al 37% con ampie differenze di tipo geografico. Vengono discussi gli approcci terapeutici che non sono sostanzialmente differenti da quelli previsti per i linfomi non-Hodgkin in pazienti senza infezione da HCV e il problema della recidiva dell'infezione virale in conseguenza dell'immuno-depressione. Viene inoltre affrontato il problema se trattare i linfomi HCV-correlati di basso grado con terapia antivirale come sembra incoraggiante, sulla base di segnalazioni recenti.

Saldanha J, Heath A, Aberham C, Albrecht J, Gentili G, Gessner M, Pisani G. World Health Organization collaborative study to establish a replacement WHO international standard for hepatitis C virus RNA nucleic acid amplification technology assays. *Vox Sang* 2005 Apr; 88(3): 202-4.

Descrizione del secondo standard internazionale dell'OMS denominato 96/798 per il virus dell'epatite C (HCV), a sostituzione del primo standard 96/790. Lo standard deriva da diluizioni di un pool di plasma umano di genotipo 1a e viene allestito dopo opportune procedure di liofilizzazione. Il preparato vale 10^5 IU/ml e si mantiene stabile a temperatura di -20°C per 5 anni.

Izumi N, Yasuhiro A, Kurosaki M, Onuki Y, Nishimura Y, Inoue K, Ueda K, Tsuchiya K, Nakanishi H, Uchihara M, Miyake S. Development of hepatocellular carcinoma after interferon therapy in chronic hepatitis C. Is it possible to reduce the incidence by ribanirin and IFN combination therapy? *Intervirology* 2005; 48(1): 59-63. È noto che la terapia con interferone nei pazienti con epatite da virus C riduce l'incidenza di carcinoma epatico. Il lavoro presenta una indagine sui fattori di rischio per lo sviluppo del carcinoma epatocellulare (HCC) nei pazienti con epatite cronica da virus C (HCV) dopo terapia di combinazione Interferone e Ribavirina. Sono stati studiati 495 pazienti con epatite cronica da HCV distinti in due gruppi in rapporto alla terapia: monoterapia con Interferone e in terapia combinata con Interferone e ribavirina. Nelle due popolazioni sono stati analizzati fattori di rischio per lo sviluppo di HCC e incidenza di HCC e vengono delineati modelli per predire il tasso di riduzione di HCC nei pazienti in terapia antivirale. Nei pazienti in terapia di combinazione il tasso di risposta sostenuta è stato del 17.3% per il genotipo 1b e del 74% per i genotipi 2a and 2b, con una stima della riduzione di HCC pari al 20% rispetto alla popolazione di pazienti trattati con solo Interferone, a sostegno del fatto che la terapia di combinazione per l'epatite cronica HCV-correlata riduce in modo importante il rischio di sviluppare HCC.

Yamashiro T, Nagayama K, Enomoto N, Watanabe H, Miyagi T, Nakasone H, Sakugawa H, Watanabe M. Quantitation of the level of hepatitis delta virus RNA in serum, by real-time polymerase chain reaction—and its possible correlation with the clinical stage of liver disease. *J Infect Dis* 2004 Apr 1; 189(7): 1151-7.

Lo studio dà luce su alcuni aspetti della patogenesi dell'epatite da virus delta (HDV) non ancora completamente chiari. In particolare, viene studiata la correlazione tra livelli sierici di HDV RNA, la viremia da virus dell'epatite B (HBV) come HBV DNA e danno epatico, in 48 soggetti HbsAg positivi con infezione da virus HBV e Delta, suddivisi in 3 gruppi; portatori asintomatici, pazienti con epatite

cronica e con cirrosi. La viremia di HDV viene analizzata mediante real-time reverse-transcription polymerase chain reaction. I portatori asintomatici mostrano livelli di viremia significativamente più bassi (mediana <100 copie/ml) di quelli dei soggetti con epatite cronica (mediana 1.1×10^4 copie/ml) e cirrosi (4.6×10^2 copie/ml) Delta-correlate. In tutti le categorie di pazienti i livelli di viremia di HBV non sono significativamente diversi e comunque sostanzialmente bassi indicando una parziale/completa soppressione della replicazione di HBV. I livelli di viremia Delta sembrano pertanto correlare con l'entità del danno epatico in particolare nei pazienti con cirrosi, a differenza di quanto accade per i valori sierici di HBV DNA.

Hasegawa I, Orito E, Tanaka Y, Hirashima N, Sakakibara K, Sakurai M, Suzuki S, Sugauchi F, Ohno T, Ueda R, Mizokami M. Impact of occult hepatitis B virus infection on efficacy and prognosis of interferon-alpha therapy for patients with chronic hepatitis C. *Liver Int* 2005 Apr; 25(2): 247-53.

Gli Autori studiano la presenza e l'impatto dell'infezione occulta da virus dell'epatite B (HBV) in una popolazione di 140 soggetti con epatite cronica da virus dell'epatite C (HCV) tutti negativi per HbsAg, in terapia con Interferone per l'infezione da HCV. La presenza di infezione occulta da HBV è stata dimostrata nell'8% dei soggetti con livelli sierici di HBV DNA inferiori a 1000 copie/ml, mediante real-time polymerase chain reaction. I pazienti con epatite B occulta non hanno mostrato una risposta alla terapia con interferone significativamente differente rispetto a quelli senza infezione occulta. L'incidenza di carcinoma epatocellulare (HCC) durante il follow-up è stata simile nei due gruppi, ma gli Autori segnalano lo sviluppo di HCC in due pazienti con infezione occulta da HBV.

Minuk GY, Sun DF, Uhanova J, Zhang M, Caouette S, Nicolle LE, Gutkin A, Doucette K, Martin B, Giulivi A. Occult hepatitis B virus infection in a North American community-based population. *J Hepatol* 2005 Apr; 42(4): 480-5.

Studio della prevalenza dell'infezione occulta da virus dell'epatite B (HBV) in un campione di una comunità chiusa rappresentata da una popolazione indiana del Nord America. L'infezione è stata riscontrata nel 18% dei soggetti con segni sierologici di pregressa infezione da HBV e nell'8% di quelli completamente negativi per HBV. In entrambi i gruppi i livelli di HBV DNA erano bassi (entro 10^5 copie/ml mediante real-time PCR) e sono state identificate varianti del gene S di HBV in percentuali elevate (dal 50 all'80%, prevalentemente in soggetti anziani). Gli Autori non riscontrano altri indicatori epidemiologici che consentano di identificare i soggetti con infezione occulta da HBV che, in questo campione di popolazione, sembra significativamente associata all'emergenza di varianti del gene S di HBV.

Weber B. Genetic variability of the S gene of hepatitis B virus: clinical and diagnostic impact. *J Clin Virol* 2005 Feb; 32(2): 102-12.

Revisione della variabilità genetica del virus dell'epatite B (HBV) e dell'impatto di essa sui test molecolari e immunometrici. Sulla base di una divergenza $>8\%$ dell'intero genoma HBV è classificato in 8 genotipi da A ad H che hanno una distribuzione geografica distinta. Dati preliminari associano i genotipi di HBV all'aggressività della malattia e alla

risposta alla terapia antivirale. La sensibilità analitica dei test per HbsAg e relativo anticorpo può dipendere dal genotipo virale. In particolare, varianti del gene S a livello trascrizionale e post-trascrizionale possono essere responsabili della ridotta sintesi e mancata secrezione di HbsAg e concorrere alla produzione di varianti che sfuggono al riconoscimento da parte del sistema immunitario. I test immunometrici per il dosaggio di HbsAg sono costantemente sottoposti a revisione e attualmente i più sensibili sono quelli che si basano sulla cattura dell'antigene da parte di anticorpi policlonali. Vengono delineate linee di miglioramento dei test immunometrici che consentano maggiore sensibilità alle varianti del gene S e di rilevare anche minime quantità di HbsAg presenti nel siero di portatori con replicazione virale soppressa.

Waltz TL, Marras S, Rochford G, Nolan J, Lee E, Melegari M, Pollack H. Development of a molecular-beacon assay to detect the G1896A precore mutation in hepatitis B virus-infected individuals. *J Clin Microbiol* 2005 Jan; 43(1): 254-8.

Descrizione di un sistema di real-time PCR per identificare la mutazione 1896 della regione precore del virus dell'epatite B (HBV), responsabile principale dell'epatite cronica HbeAg-negativa. Il sistema utilizza la tecnologia di molecular-beacon su piattaforma ABI 7700 per l'identificazione sia del wild type sia della mutazione precore ed è stato testato su plasma di bambini HbeAg negativi e HbeAg positivi, come controlli. I risultati sono stati correlati con i dati ottenuti da sequenziamento diretto. Il 90% dei campioni ha dato risultati concordanti con quelli ottenuti dall'analisi di sequenza e il restante 10% era costituito da una popolazione eterogenea di wild type e mutanti precore mediante real-time PCR e di solo mutanti mediante sequenziamento. Nel complesso la mutazione 1896 del precore è stata ritrovata nel 55.5% di tutti i pazienti HbeAg-negativi.

Friebe P, Boudet J, Simorre JP, Bartenschlager R. Kissing-loop interaction in the 3' end of the hepatitis C virus genome essential for RNA replication. *J Virol* 2005 Jan; 79(1): 380-92.

Lo studio della replicazione del virus dell'epatite C (HCV) all'interno del sistema dei replicon subgenomici consente di acquisire elementi nuovi ed importanti per una migliore comprensione di come il virus si replica in vivo. Il genoma del virus dell'epatite C (HCV) è costituito da RNA a polarità positiva che contiene alle due estremità 5' e 3' sequenze non soggette a trascrizione altamente conservate (NTR). Le regioni NTR sono importanti perché contengono zone fondamentali per la replicazione di HCV: all'estremità 5' ci sono siti che direzionano i ribosomi cellulari alla sintesi delle proteine virali (IRES); all'estremità 3' vi è una struttura ad alta complessità denominata regione X altamente conservata di 98 nucleotidi che possiede elementi denominati cis-acting replication elements (CRE) essenziali per la replicazione di HCV che avviene in diversi compartimenti del citoplasma cellulare. Gli Autori applicando tecniche di genetica computazionale per predire la struttura secondaria dell'RNA ai replicon di HCV, identificano una nuova struttura a forma di stem-loop all'interno della regione NS5B, critica per la replicazione del virus e che interagisce con la regione X dell'estremità 3' del genoma virale. La distruzione di questa zona e l'alterazione della struttura secondaria di essa attraverso l'introduzione di mismatch

nella sequenza originaria bloccano la replicazione dell'RNA virale nel sistema dei replicon.

Robek MD, Boyd BS, Chisari FV. Lambda interferon inhibits hepatitis B and C virus replication. *J Virol* 2005 Mar; 79(6): 3851-4.

Studio in vitro degli effetti di una nuova famiglia di citochine appartenenti al gruppo degli Interferoni-lambda (IFN- λ) 1, 2 e 3 altrimenti indicati rispettivamente come interleuchina 29 (IL-29), IL-28A e IL-28B, sulla replicazione dei virus epatitici B (HBV) e C (HCV). Gli IFN- λ presentano bassa omologia di sequenza con gli IFN- α/β ; agiscono attraverso recettori differenti, rappresentati dal complesso costituito dalla subunità 2 del recettore per l'interleuchina 10 e da una molecola specifica per IFN- λ e attivano simili cascate di segnali intracellulari fino alla trascrizione genica del complesso interferonico (ISRE). Dosi da 1 a 10 ng di IFN- λ inibiscono la replicazione di HBV nel 90% degli epatociti murini utilizzati nello studio, allo stesso modo di 20 ng di IFN- α/β . Gli IFN- λ sono in grado di bloccare la replicazione di replicon subgenomici e genomici di HCV (genotipo 1b) nella linea HuH7, dimostrando, quindi, una efficacia importante, che potrebbe portare ad ipotizzarne l'utilizzo clinico da solo o in combinazione con IFN- α .

EVIDENCE BASED MEDICINE (marzo 2005) a cura di GIUSEPPE GIOCOLI

Christian Gluud, Lise Lotte Gluud. Evidence based diagnostics. *BMJ* 2005; 330:724-6

Brian Alper. Critical Appraisal Training System.
<http://www.dianexus.org/Dynamed>

"S'indaga sulla validità dei nuovi test diagnostici con molto meno rigore che sui nuovi farmaci. Sarebbe ora di conoscere a fondo benefici e rischi dei test," affermano Christian e Liselotte Gluud. Con l'articolo dei due ricercatori danesi, il *British Medical Journal* torna su un argomento più volte discusso, per esempio un paio d'anni fa con i saggi tratti dalla monografia di Knottnerus (*The evidence base of Clinical Diagnosis*).

Una volta stabilite sensibilità e specificità di un test, la domanda fondamentale è "Quali vantaggi traggono i pazienti sottoposti al test rispetto a coloro che non lo sono?"

Secondo i Gluud, per rispondere a questa domanda gli studi sui test diagnostici devono comprendere indagini dall'architettura simile a quella degli studi farmacologici, da dividere in quattro fasi.

Nella prima, studi osservazionali permetteranno di stabilire i valori di riferimento di persone in normale stato di salute. Anche la seconda fase si basa su studi osservazionali e deve stabilire l'accuratezza del test mediante confronti con un gold standard. Le indagini dovranno essere eseguite in fase preliminare su soggetti normali e pazienti con la malattia conclamata (studi caso-controllo) e, in seguito, su pazienti in cui la malattia è solamente sospetta. Questo

accorgimento è fondamentale per evitare distorsioni della stima e accertare la capacità discriminante del test e il suo valore aggiunto. La terza fase si svolge con studi randomizzati e controllati e serve a determinare le conseguenze cliniche dell'introduzione del nuovo test (e a rispondere alla domanda fondamentale di cui sopra). La quarta deve stabilire se, una volta introdotto nella pratica clinica, il test riesce a conservare le qualità accertate con le precedenti valutazioni eseguite in condizioni ideali, superando i vari problemi logistici (conservazione, trasporto del campione) e di uso (circostanze e modalità di esecuzione). Questa fase è eseguita con studi di coorte.

L'articolo dei Gluud (pubblicato da BMJ il 26.3.05) merita davvero una lettura anche da parte dei microbiologi. Chi è interessato può trovarlo in originale nella Rubrica "Periscopio" (v. sito AMCLI www.amcli.it, Aggiornamento dalla rete, data 28.3.05).

La seconda citazione non riguarda un articolo di microbiologia o d'infettivologia, ma un sito Internet. Vi si può trovare una facile e pratica guida per la valutazione critica di un articolo descrivente la "validazione" di un test diagnostico.

Come esposto nella precedente recensione, "validazione" è un termine molto impegnativo e implica verifiche assai rigorose. Esse devono non solo provare che il test riesce a identificare una malattia, ma anche che le conseguenze della diagnosi sono utili per il paziente, perchè innescano interventi benefici per la sua salute e vantaggiosi per la comunità (terapie efficaci, riduzione della degenza, calo della mortalità, contenimento dei costi, snellimento dell'organizzazione, ecc.). In poche parole: devono provare che il test è efficace.

In realtà gli studi ai quali alludiamo – anche se impropriamente chiamati "di validazione" – corrispondono agli studi di seconda fase (nella classifica proposta dai Gluud) e si limitano di solito a descrivere l'accuratezza di un test, quindi la sua sensibilità, la specificità e l'attributo preliminare dell'utilità clinica, il potere predittivo.

Come si fa a giudicare se le conclusioni sono affidabili? Basta il nome della rivista?

La risposta è NO. Lo prova il fatto che, almeno in campo diagnostico, gli addetti alle revisioni sistematiche sono soliti includervi quote minime degli studi su un determinato test. La selezione è spietata, anche nei riguardi di articoli pubblicati da periodici di fama mondiale.

I complessi strumenti utilizzati dai revisori sono costruiti sullo schema di una delle note Guide JAMA, pubblicata nel 1994. Esso è stato utilizzato anche per strumenti più semplici, ad esempio lo STARD, la check-list per aiutare gli autori degli studi diagnostici a controllare che il proprio lavoro sia ben eseguito e ben esposto, o la check-list di Alper, utile per esaminare con occhio critico gli articoli che c'interessano. A proposito di quest'ultima, chi desidera vedere come funziona può consultare la rubrica "Ultime notizie" nel sito AMCLI (www.amcli.it). Nel suo "archivio", in data 23.3.05, è contenuto un esempio di revisione critica di un test per la tricomoniasi vaginale.

PARVOVIRUS B19

a cura di MANUELA PEGORARO

Breman JG, Alilio MS, Mills A. Conquering the intolerable burden of malaria: what's new, what's needed: a summary.

American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 71 (Suppl 2), 2004: 1-15.

Il Lavoro rappresenta il secondo supplemento di questo giornale (il primo risale al 2001) dedicato all'enorme problema sanitario rappresentato dalla malaria che, lungi dall'essere controllata, ha visto un costante incremento in termini di prevalenza, morbilità e mortalità nelle ultime decadi. Il tributo maggiore è pagato, come noto, dall'Africa subsahariana e, in quest'area, da parte soprattutto della popolazione infantile che, insieme alle donne gravide, rappresentano le categorie più vulnerabili alle conseguenze gravi dell'infezione.

Accanto ad un approfondimento clinico volto a valutare l'importante ruolo dell'endemia malarica nei quadri di anemia cronica, nei disordini metabolici e neuropsichiatrici, nell'aggravamento di tutte le altre patologie infantili e nella mortalità perinatale (attraverso una drammatica sinergia tra *P. falciparum* e HIV), il lavoro affronta molti altri aspetti: epidemiologici (il rapido diffondersi dell'infezione in ambiente urbano, dove minore è il grado di immunizzazione della popolazione, aumenta il rischio di epidemie); entomologici (con l'analisi di modelli matematici che possono contribuire a spiegare e a prevedere le dinamiche di trasmissione così da fornire elementi utili nella pianificazione degli interventi di controllo); economici (l'endemia malarica in Africa incide pesantemente sulla produttività della popolazione e, colpendo le fasce più giovani, ne riduce anche le potenzialità, mantenendo e consolidando lo stato di povertà e sottosviluppo) e sociali (l'isolamento della popolazione più povera e vulnerabile, per definizione "poco appetibile" nella logica che regola il mercato farmaceutico, nei confronti dell'accesso ai farmaci).

L'analisi degli strumenti di controllo ma soprattutto le modalità con cui gestirli, coordinarli ed integrarli, occupano la seconda parte di questo lavoro davvero complesso e articolato. Viene così discussa l'applicabilità di nuovi approcci farmacologici basati su terapie combinate a base di derivati dell'*Artemisia annua* (ACT), di efficacia già sperimentata nel sud-est asiatico ma di più difficile gestione (l'unica specialità registrata richiede due somministrazioni giornaliere per almeno tre giorni) e soprattutto troppo costosi per i paesi africani e vengono presi in considerazione gli sviluppi nella messa a punto di vaccini, 35 dei quali già in fase di sperimentazione clinica. L'aspetto tuttavia che da ultimo viene fortemente sottolineato è la necessità di una volontà politica locale realmente determinata ad affrontare il problema, attraverso una gestione attenta e coordinata dei fondi che miri ad organizzare e ad integrare strutture decentrate, in grado di sostenere l'intervento programmato, di monitorare i risultati ottenuti applicando, se necessario, azioni correttive intermedie: il tutto ovviamente non può prescindere da un reale rafforzamento delle risorse umane locali e dalle relative possibilità di confronto e comunicazione. A tal proposito vengono enfatizzate iniziative quali il CEEMI (Center for Enhancement of Effective Malaria

Interventions) che ha sede in Tanzania e il MIMCom (Multilateral Initiative on Malaria Communications Project).

Panosian CB. Economic Access to Effective Drugs for Falciparum Malaria.

Clinical Infectious Disease 2005; 40: 713-7.

Il Lavoro riporta e discute le raccomandazioni espresse dallo IOM Committee on the Economics of Antimalarial Drugs, istituito un paio d'anni fa dall'Istitute of Medicine (ente privato statunitense che elabora strategie di politica sanitaria) con l'obiettivo di pianificare una serie di interventi finalizzati alla distribuzione più ampia possibile dei nuovi trattamenti antimalarici efficaci contro i ceppi di *P. falciparum* resistenti alla cloroquina e agli inibitori dei folati (sulfadoxina-pirimetamina). Questo "nuovo" approccio farmacologico è rappresentato dall'associazione di farmaci antimalarici "classici" con derivati artemisinici (l'antico "qingao" della farmacopea cinese) particolarmente attivi su tutte le fasi di maturazione (sessuata e non) del parassita: l'associazione con un'altra molecola ha il duplice ruolo di prolungare l'attività antimalarica (riducendo la durata del trattamento) e di prevenire l'insorgenza di resistenze. Dal punto di vista farmacologico restano aperti problemi quali la scelta di associazioni con caratteristiche di tossicità e farmacodinamica diverse e la necessità, qualora l'ACT venga effettivamente distribuita su larga scala, di stabilire accurati sistemi di sorveglianza nei confronti sia di eventuali resistenze che di effetti collaterali. Per il momento, tuttavia, il problema essenziale di questo tipo di terapia è il suo costo: superiore di almeno venti volte quello della cloroquina è decisamente insostenibile per le popolazioni che ne hanno maggiore necessità. Di qui la proposta dell'Istituto americano di sovvenzionare con fondi raccolti a livello mondiale l'acquisto del farmaco da parte di un unico organismo internazionale che provveda a distribuirlo, attraverso canali pubblici e privati, garantendone il contenimento del prezzo.

Rosenberg T. What the world needs now is ddt.

The New York Times Magazine, 11 aprile 2004.

tradotto:

Il ritorno del DDT Internazionale (N. 538) 7-13 maggio 2004: 48-51

L'articolo è una denuncia dell'ipocrisia dei paesi più ricchi, che hanno eradicato la malaria attraverso l'uso massiccio e indiscriminato del DDT (dicloro-difenil-tricloroetano) ma che oggi di fatto ne impediscono l'uso in quei paesi dove la malattia miete ancora milioni di vittime stroncando economia e sviluppo. Negli Stati Uniti l'uso del DDT è vietato dal 1972 per i danni ambientali legati al suo accumulo e, in Europa, è stato inserito fra i dodici agenti organici maggiormente inquinanti e messi al bando con il trattato di Stoccolma del 2001 (con una clausola che, pur invitando alla sua graduale eliminazione, ne autorizza l'uso nelle case a scopi di sanità pubblica). Secondo vari esperti impegnati in programmi di lotta antimalarica, l'impiego del DDT a scopo sanitario (quindi spruzzato unicamente all'interno delle case, ad opportuni intervalli di tempo) rappresenterebbe ancora uno strumento efficace di controllo, sostanzialmente non dannoso per l'ambiente (l'alterazione agli ecosistemi è legata al suo uso massiccio in agricoltura) così come lo è stato nei vent'anni di utilizzo in Africa, Asia e America Latina. Il problema è rappresentato dalle pressioni dei paesi sviluppati su quelli più vulnerabili, affinché essi stessi rinuncino all'utilizzo di questo insetticida, attraverso

ricatti economici e blocco dei finanziamenti ai programmi di controllo che ne prevedono l'uso: le principali istituzioni che sostengono economicamente gli interventi di controllo antimalarico (OMS, Usaid e il Fondo globale per la lotta all'AIDS, alla tubercolosi e alla malaria) attualmente non finanziano i programmi che utilizzano il DDT.

Sicuramente si tratta di un prodotto controverso: i paesi che hanno sconfitto la malaria gli devono molto ma, in quegli stessi paesi, la lotta per metterlo al bando ha gettato le solide basi del movimento ambientalista, ci sono studi controversi su eventuali danni all'uomo in termini soprattutto di parti prematuri e intanto ci sono ancora 3 milioni di persone che ogni anno nel mondo si ammalano e muoiono di malaria.

INFEZIONI MATERNO FETALI E NEONATALI

a cura di LIDIA RICCI

Naruse K, Yamasaki M, Harada N, Sakamoto Y, Morikawa H. Maternal listeriosis in pregnancy associated with measles virus infection. J Obstet Gynaecol Res. 2004 Apr;30 (2): 117-9.

Gli autori illustrano un caso di Listeriosi verificatosi in un soggetto di 30 anni alla 26-ima settimana di gestazione. La donna viene ricoverata in ospedale per febbre a 40,1 °C e presenza cutanea di rash multipli. La diagnosi di morbilli viene prontamente effettuata; tuttavia dopo apposite cure la paziente non migliora e 6 giorni dopo l'ingresso in ospedale subentra una febbre di 38 °C. L'esecuzione di un set di emocolture consente l'isolamento di *Listeria monocytogenes*, mentre dalla coltura del liquido amniotico non viene isolato nessun battere. Il trattamento terapeutico con ampicillina + gentamicina determina la scomparsa dei sintomi dopo cinque giorni. Segue la dimissione della paziente con l'indicazione però di continuare il trattamento per via orale con ampicillina fino al parto, cioè fino alla 39-ima settimana di gestazione. Alla nascita la neonata pesa 3280 gr. ed appare in buona salute; l'unico riscontro è la presenza di Immunoglobuline G per il morbilli al titolo di 128 mg/dl. Le Ig M risultano negative. L'infezione morbilliforme si manifesta spesso in associazione con altre infezioni e questo caso di Listeriosi mette in rilievo l'importanza di una rapida diagnosi ed un trattamento adeguato onde evitare conseguenze sul feto.

Klebanoff MA, Hillier SL, Nugent RP, Macpherson CA, Hauth JC, Carey JC, Harper M, Wapner RJ, Trout W, Moawad A, Leveno KJ, Miodovnik M, Sibai BM, Vandersten JP, Dombrowski MP, O'Sullivan MJ, Varner M, Langer O. Is bacterial vaginosis a stronger risk factor for preterm birth when it is diagnosed earlier in gestation? Am J Obstet Gynecol. 2005 Feb; 192 (2): 470-7.

Obiettivo degli autori è stato quello di effettuare uno studio clinico su 12.937 soggetti, per stabilire se la Vaginosi Batterica (V.B) asintomatica rappresenta un fattore di rischio per il parto pretermine. L'indagine è stata eseguita su donne gravide nel periodo compreso fra la 8-22-ima settimana di gestazione. I risultati dello studio indicano che nei soggetti con VB il rischio di parto pretermine è più elevato che nei soggetti negativi (odds ratio: 1,1-1,6). Non è

stata osservata invece alcuna correlazione né con l'età gestazionale, né con il grado d'infezione, valutato attraverso l'osservazione microscopica ("score").

Sheffield JS. Sepsis and septic shock in pregnancy Crit Care Clin 20(2004) 651-660

Interessante questa panoramica sui vari aspetti che caratterizzano la sepsi e lo shock settico in gravidanza. Il sito più comune d'infezione da cui sviluppa la sepsi è la Pelvi, in particolare nei soggetti che hanno subito interventi chirurgici. I batteri più frequentemente isolati sono: *E.coli*, *Bacteroides spp.*, *Klebsiella spp.*, *Streptococchi* e *Staphylococcus aureus*. I miceti si riscontrano nel 5-10% dei casi. Molti batteri, sia Gram negativi che Gram positivi, agiscono attraverso il rilascio di endotossine ed esotossine, che inducono un coinvolgimento sistemico. Nel 40-70% delle pazienti con shock tossico si riscontra una positività dell'emocultura. È molto importante che il microbiologo isoli rapidamente l'agente eziologico per consentire un'applicazione terapeutica adeguata e gli altri opportuni interventi di cura onde evitare conseguenze sul feto. In genere la terapia prevede l'uso di penicillina in associazione con gentamicina e clindamicina e, se viene isolato *Staphylococcus aureus* con vancomicina.

Knee DS, Christ MJ, Gries DM, Thompson MW. Actinomyces species and Cerclage Placement in Neonatal Sepsis: A Case Report. Journal of perinatology 2004;24:389-391.

Gli autori descrivono un caso di sepsi da Attinomiceti in un soggetto prematuro, nato da parto gemellare alla 28-ima settimana di gestazione da madre precedentemente sottoposta a cerchiaggio cervicale. Nella donna il parto era stato caratterizzato da intenso dolore e pressione vaginale, accompagnato da perdite mucopurulente ed ematiche. Il sacco amniotico del gemello B conteneva un liquido chiaro, mentre il sacco del gemello A era purulento ed il neonato presentava alla nascita distress respiratorio e edema generalizzato. Da coltura del succo gastrico, dell'aspirato tracheale e da emocultura s'isolava un bacillo Gram positivo che, presentando difficoltà identificative, richiedeva l'invio ad un centro di riferimento. Identificato il genere *Actinomyces spp.* veniva impostata una terapia mirata che sostituiva quell'empirica eseguita con vari antibiotici. Il neonato decedeva al 35-imo giorno di vita e l'indagine autopsica indicava congestione polmonare, emorragia intralveolare, enfisema, polmonite e presenza di microtrombi. Questo caso identifica nel cerchiaggio una possibile causa d'infezione da Attinomiceti e mette in evidenza le difficoltà abbastanza diffuse tra i microbiologi nell'identificare il genere *Actinomyces spp.*, con conseguenze anche gravi come quelle appena descritte.

Simhan HN, Caritis SN, Krohn MA, Hillier SL. The vaginal inflammatory milieu and the risk of early premature preterm rupture of membranes. Am J Obstet Gynecol. 2005 Jan; 192(!):213-8

I risultati di questo studio indicano che il riscontro, di un aumento di neutrofilii, nel secreto vaginale, associato ad aumento di pH, è predittivo per la rottura prematura delle membrane (PROM). È stato eseguito uno studio di corte su 12.734 gravide alla 23-26-ima settimana di gestazione. Tutti i soggetti sono stati esaminati eseguendo:

a. osservazione microscopica del secreto vaginale colorato al Gram

b. misura del pH vaginale

Il riscontro di un numero di neutrofilii > 5 per campo (osservazione in immersione ad olio) e pH > = 5 è associato a PROM.

Tra i soggetti esaminati, 1149 gravide (pari a 8,3%) presentavano alterazione dei due elementi considerati e manifestavano una rottura prematura delle membrane nel periodo di gestazione compreso fra 24-32 settimane.

Plachouras N, Sotiriadis A, Dalkalitsis N, Kontostolis E, Xiropotamo Paraskevidis E. Fulminant sepsis after invasive prenatal diagnosis Obste Gynecol 2004 Dec; 104 (6): 1244-7

Gli autori descrivono un caso di sepsi conseguente ad amniocentesi e cordocentesi; inoltre illustrano i risultati ottenuti dalla revisione della letteratura sullo stesso argomento. Il caso clinico descritto si riferisce ad una paziente che era stata sottoposta ad amniocentesi alla 15-ima settimana di gestazione e cordocentesi alla 20-ima settimana. Subito dopo la madre presentava rottura prematura delle membrane (PROM), perdite vaginali ematiche e successivamente una sindrome settica con insufficienza d'organo multipla e formazione di coaguli intravascolari. La morte del feto ed uno stato di grave macerazione inducevano a rimozione dell'utero. La coltura del materiale contenuto in utero consentiva l'isolamento di *Clostridium perfringens* quale agente eziologico dell'infezione. Instaurata una terapia, la paziente sopravviveva dopo 34 giorni di cure presso l'Unità di Terapia Intensiva. Questo caso si associa ad altri 10 precedentemente descritti in letteratura come conseguenti alla diagnosi prenatale transaddominale.

Avila-Aguero ML, Canas-Coto A, Ulloa-Gutierrez R, Caro MA, Alfaro B, Paris MM. Risk factors for Candida infections in a neonatal intensive care unit in Costa Rica Int J Infect Dis. 2005 Mar; 9 (2): 90-5

Obiettivo degli autori è stato quello di identificare i fattori di rischio per le infezioni da Miceti nei neonati.

Sono stati pertanto esaminati tutti i pazienti con batteriemia da *Candida spp.* riscontrati nel periodo 1994-1998 presso l'Unità di Terapia Intensiva della Costa Rica. Dai risultati ottenuti si osserva che:

- a. I casi riscontrati nel periodo di studio sono stati 10
- b. Il 60% dei soggetti era di sesso maschile
- c. Il 62% dei positivi erano nati pretermine
- d. Il 34% dei soggetti con positività dell'emocultura sono deceduti e di questi il 54% aveva un'infezione disseminata rivelata dall'autopsia
- e. La specie più frequente è stata *C.albicans* (90%) seguita da *C. tropicalis* (10%)
- f. Il tempo di positivizzazione dell'emocultura dal momento dell'ammissione all'Unità di Terapia Intensiva era compreso fra 1-30 giorni

Chiang MC, Wang TM, Fu RH, Chu SM, Chou YH. Early-onset *Escherichia coli* sepsis presenting as acute scrotum in preterm infant Urology. 2005 Feb; 65 (2): 389

Non è usuale riscontrare nei neonati le epididimiti, epididimo-orchiti e l'idrocele, tuttavia gli autori documentano un caso di sepsi neonatale da *E.coli*, conseguente ad epididimo-orchite ed idrocele. La corretta e rapida diagnosi ha consentito un'applicazione terapeutica e la soluzione del caso. Tuttavia da questo studio è emerso un aspetto importante: la necessità di differenziare la torsione testicolare dalla presenza d'infezioni batteriche, onde evitare inutili

esplorazioni chirurgiche.

Lohmeier K, Megahed M, Schulte KW, Stannigel H, Mayatepek E, Schroten H Toxic epidermal necrolysis in a premature infant of 27 weeks' gestational age Br J Dermatol. 2005 Jan; 152(1):150-1.

Gli autori descrivono un caso di Necrolisi Tossica Epidermica (TEN) osservato in un soggetto Prematuro, nato alla 27-ima settimana di gestazione.

La patologia si è manifestata dopo 4 settimane dalla nascita e dalla coltura di sangue è stato isolato un ceppo di Stafilococco coagulasi negativo. Il trattamento terapeutico effettuato con una combinazione d'antibiotici ha portato alla guarigione del neonato.

Gli autori hanno eseguito anche una revisione della letteratura, riscontrando altri tre casi di TEN caratterizzati dall'isolamento in coltura di Klebsiella pneumoniae ed E.coli.

Hollier LM. Preventing preterm birth: what works, what doesn't Obstet Gynecol Surv. 2005 Feb;60(2):124-31.

Interessante questo studio clinico prospettico eseguito per valutare il test di determinazione di Interleukina 6 da secreto vaginale.

In particolare sono stati esaminati 73 soggetti con rottura prematura delle membrane (PROM), per valutare se l'incremento d'interleukina 6 era predittivo per lo sviluppo d'infezione neonatale.

Il metodo immunocromatografico ha richiesto circa 20 minuti per l'esecuzione ed ha mostrato una sensibilità pari a 79%, una specificità pari a 56% ed un valore predittivo positivo e negativo rispettivamente del 30% e 92%. Tutte le infezioni neonatali erano caratterizzate da aumento di proteina C reattiva e da aumento di Interleukina 6, indicando che il dosaggio di questo parametro può essere efficace quale marker delle infezioni.

Ayoola OO, Adeyemo AA, Osinusi K. Concurrent bacteraemia and malaria in febrile Nigerian infant???? Trop. Doct. 2005 Jan; 35 (1): 34-6

Questo studio è stato eseguito con l'obiettivo di valutare la prevalenza di batteriemia e di parassitemia malarica in neonati d'età compresa fra 1-12 mesi. Sono stati esaminati, presso L'University College Hospital della Nigeria, 102 neonati febbrili e non trattati con antibiotici. La ricerca è stata eseguita attraverso l'esecuzione su ciascun neonato di emocoltura e striscio per ricerca dei parassiti malarici. Dalle conclusioni si evince che:

- a. il 38% dei neonati aveva una positività dell'emocoltura
- b. il 46,1% risultava positivo per la ricerca di parassiti malarici
- c. i batteri più frequentemente isolati da sangue erano E.coli (35,9%), Staphylococcus aureus (33,3%), Klebsiella spp. (10,3%). Tali dati indicano che se un neonato è febbrile e proviene da paesi dove la malaria è endemica, è opportuno eseguire la ricerca dei parassiti e contemporaneamente la ricerca batteriologica da sangue (emocoltura). Inoltre è consigliabile l'utilizzo di una terapia antibiotica associata a terapia antimalarica, quando non sono disponibili le indagini di laboratorio.

Chacko B, Sohi I. Early onset neonatal sepsis Indian J Pediatr. 2005 Jan; 72 (1): 23-6

Interessante quest'indagine, eseguita dagli autori per analizzare gli aspetti che caratterizzano le sepsi neonatali

precoci (Early onset sepsis, EOS). Dall'osservazione di 1743 neonati e considerando i casi positivi verificatesi entro 72 ore dalla nascita sono emersi i seguenti risultati:

- a. i casi positivi riscontrati sono stati 65, con un tasso d'incidenza pari a 37,2/1000 nati vivi
- b. l'incidenza di EOS è risultata pari a 20,7/1000 nati vivi e pari al 55,4 % di tutti i casi di sepsi.
- c. i fattori di rischi perinatali più frequenti erano la rottura prematura delle membrane, le infezioni delle vie urinarie nella madre.
- d. l'incidenza di sepsi nei neonati con fattori di rischio è risultata pari al 20,6% invece in quelli senza fattori di rischio il valore riscontrato era pari a 0,5%.
- e. la mortalità si è verificata nel 19,4% dei neonati con sepsi.
- f. Pseudomonas spp. è stato l'agente batterico più frequentemente isolato dalla coltura (60% dei casi).

Priya Alexander, Anand Alladi, Marjorie Correa, Ashley J. D'Cruz. Neonatal Colonic Mucormycosis-A Tropical Perspective Journal of Tropical Pediatrics, Vol. 51 (1); 54-59

In questo lavoro vengono illustrati tre casi di mucormicosi neonatale ed inoltre i dati ottenuti dalla revisione della letteratura precedentemente pubblicata su casi analoghi. La mucormicosi è un'infezione rara e riscontrabile in genere in 1/3 dei neonati con enterocolite necrotizzante (NEC). Dei tre casi descritti, il primo si riferisce ad un neonato che dopo 4 giorni dalla nascita presentava addome acuto, vomito e forte stato di disidratazione. Nonostante una terapia con anfotericina B decedeva dopo 2 settimane per sepsi.

Il secondo neonato mostrava segni d'infezione in settima giornata, accompagnata da vomito e da perdite ematiche rettali. Un trattamento con fluconazolo, insieme a trattamento chirurgico, ha consentito la sopravvivenza del neonato. Fatale l'esito del terzo caso verificatosi in un neonato la cui madre aveva subito un parto cesareo, l'insorgenza di mucormicosi è stata documentata dalla coltura del materiale necrotico intestinale. Questo neonato soffriva di polmonite e stato settico subito dopo la nascita ed era stato sottoposto a trattamento terapeutico; nonostante questo dopo 20 giorni una peritonite da **Mucor spp.** ne provocava il decesso.

Lawn JE, Cousens S, Zupan J; Lancet Neonatal Survival Steering Team 4 million neonatal deaths: when? Where? Why?

Lancet 2005 Mar 2; 365 (9462): 891-900

Ogni anno, nel mondo 4 milioni di neonati muoiono nelle prime quattro settimane di vita (450 ogni ora) e 0,5 milioni di madri muoiono per cause legate alla gravidanza. Il numero di decessi neonatali, pari al 38% nel 2000, è attualmente in aumento. Le morti neonatali si verificano per i ¾ nella prima settimana di vita ed il tasso più elevato si registra in prima giornata. Le cause principali sono:

1. parto pretermine (28%)
2. infezioni gravi (26%)
3. asfissia (23%)
4. tetano (7%)
5. basso peso come causa indiretta
6. complicazioni materne al parto

Il 99% dei decessi si registra nei paesi poveri, contro un valore dell'1% dei paesi ricchi e basterebbe un attento programma di prevenzione per salvare molti neonati.

Qualche riflessione su Agostino Bassi e la sua scoperta

Prof. Guglielmo Gargani

Molti, anche se non moltissimi, ricordano Ugo Bassi, il barnabita seguace di Garibaldi, condannato a morte nel 1849, ma pochi, anzi pochissimi, ricordano Agostino Bassi, ignorato fra gli altri anche dall'Enciclopedia Britannica.

Ralleghiamoci come cittadini che, nonostante lo stravolgere delle idee e dei sentimenti, ci sia ancora chi ricorda coloro che sono morti per l'unità di questa povera Italia. C'è però da dolersi che addirittura fra gli addetti ai lavori si sia dimenticato, o forse non sia mai stato conosciuto, **Agostino Bassi**, colui che per primo dimostrò la natura parassitaria di una malattia, anche se non dell'uomo o degli animali a sangue caldo, ma di un artropode, sia pure di grande interesse industriale, il baco da seta (*Bombyx mori*, Linneus 1758). Una osservazione empirica, ma che Egli sviluppò con intuizione geniale, affermando che le malattie infettive, sia nel baco da seta, sia negli animali a sangue caldo, e quindi nell'uomo, sono dovute a parassiti.

Mi sembra d'altra parte doveroso, in questa sede, rilevare che la prima eziologia dimostrata di una malattia infettiva sia stata un fungo, la *Beauveria bassiana* (Vuillemin 1912).

Agostino Bassi nacque a Mairago a sud est di Lodi il 25 settembre 1773 (ci sono incertezze sull'anno, altri riportano 1771, altri ancora 1775) e morì l'8 febbraio 1856 a Lodi, dove trascorse, a parte gli studi universitari, tutta la vita, dimostrando che un uomo di genio può fare scoperte fondamentali anche senza allontanarsi troppo dal paesello natale.

Viene definito come proveniente da una famiglia di agricoltori, certamente benestanti in quanto fu avviato agli studi superiori, dimostrando fin dal tempo della scuola media (il ginnasio) interesse per le materie scientifiche, tuttavia al momento dell'ingresso alla università di Pavia, fu iscritto dal padre alla facoltà di giurisprudenza. Pur seguendo il corso di studi impostogli dal Padre, fino alla laurea nel 1798¹, Agostino Bassi conservò l'interesse per le scienze naturali, favorito dall'ambiente universitario di Pavia, a quel tempo illustrato da grandi nomi - Spallanzani, Rasori, Volta - dei quali seguì le lezioni come "uditore".

Dopo la laurea rientrò a Lodi, e qui ricoprì vari uffici pubblici, ma, fortunatamente per la scienza e forse anche per lui, fu costretto a ritirarsi per una malattia agli occhi, e si dedicò alla cura delle sue aziende e sopra tutto alle ricerche naturalistiche, applicando quanto aveva "udito" dai grandi maestri. È una conseguenza della posizione "sociale" che le sue indagini fossero prevalentemente dedicate al miglioramento della produzione agraria (le chiamava *agricole sperimentazioni*); ne fanno fede le varie memorie pubblicate su temi di

zootecnia, pastorizia, bacologia, gelsicoltura, enologia, industria casearia, patologia animale e vegetale, fra le quali mi piace ricordare una "memoria" sulla possibilità di produrre il vino da frutti diversi dell'uva, ciliegie o arance, e sopra tutto il trattatello (1820) sul "grana lodigiano".

È per lo meno singolare che essendosi ritirato dal servizio statale per una malattia della vista, abbia poi passato tutta la vita a fare osservazioni biologiche, per le quali sembrerebbe indispensabile il microscopio, del quale in verità non si sa quanto facesse uso. Ricerche comunque portate avanti a Lodi, praticamente in casa, ben lontano dall'ambiente accademico, che probabilmente lo snobbava, ed è nel giusto Ajello ritenendolo, per quanto riguarda la preparazione scientifica, un autodidatta. Fu solo più tardi che i suoi più importanti risultati furono confermati da Giuseppe Balsamo-Crivelli (vedi oltre).

In questo ambito di ricerche in campo agrario/industriale Agostino Bassi ha comunque lasciato la maggior impronta nella storia della scienza e nel progresso dell'umanità quando si è interessato, forse proprio nella sua posizione di coltivatore, del *Mal del segno*, ovvero *calcinaccio*, o *moscardino*², del baco da seta (*Bombyx mori*), che provocava forti perdite all'industria della seta, per la quale aveva forse interesse diretto come coltivatore. Una ricerca i cui risultati scavalcarono completamente l'ambito per il quale erano state pensate per assumere un valore determinante nella comprensione delle malattie infettive.

Al *Mal del segno* Egli dedicò oltre 20 anni di vita ottenendo risultati di straordinaria importanza, pubblicati in due memorie nel biennio 1835-36: *Del Mal del Segno, Calcinaccio o Moscardino - Malattia che affligge i bachi da seta e sul modo di liberarne le Bigataje, anche le più infestate*; non ebbe alcun aiuto finanziario, così che consumò tutto il suo patrimonio e morì povero, con un solo riconoscimento: la croce di cavaliere della Legion d'Onore conferita dalla Repubblica Francese, dove al contrario di quanto avvenne in Lombardia, si era subito compresa l'importanza delle sue osservazioni sopra tutto per la regione di Lione dove la coltivazione del filugello era fortemente danneggiata dal *muscardin*.

Agostino Bassi stabilì che il *Mal del segno* è dovuto ad un agente patogeno che passa da un soggetto all'altro, può trasmettersi artificialmente ad insetti diversi dal baco da seta e riprodursi su mezzi di laboratorio. Sono osservazioni che anticipano i postulati di Koch e portano alla identificazione delle malattie infettive, come oggi le concepiamo, nella prima metà del XIX secolo quando la teoria della generazione spontanea, benché dimostrata falsa prima dal Redi poi definitivamente dallo Spallanzani³, era ancora in auge per le malattie.

¹ Una pagina web sulla micologia, a Pavia, lo indica come laureato in scienze matematiche, mediche, naturali. È probabilmente un errore, ma è opportuno tener conto che si tratta di un periodo storico particolarmente confuso e forse parte dei documenti è andata perduta. Gli incarichi pubblici indicati in una nota della città di Lodi si accorderebbero meglio con la laurea in giurisprudenza.

² Il termine *moscardino* sarebbe di origine francese e indica i bombon bianchi ai quali fortemente assomigliano i bozzoli infetti; altri significati sono per lo Zingarelli 1. piccolo roditore, 2 pasticcia di muschio 3 bellimbusto (*Boheme Illica* e *Giocosa*). Inoltre ci sono anche dei piccoli cefalopodi indicati con questo nome sul litorale tirrenico.

³ Spallanzani e Rasori avrebbero comunque sostenuto il "contagio vivo".

In effetti la trasmissione delle **pestilenze** dal malato al sano era da tempo presente nella coscienza popolare: i lebbrosi vivevano in un terribile isolamento, le repubbliche marinare applicavano le misure quarantenarie e ci fu anche chi tentò la guerra batteriologica, come nel 1346 i tartari all'assedio di Caffa, con la conseguente diffusione in Europa della "peste nera".

Qualcuno aveva anche intuito l'esistenza di agenti di trasmissione: Lucrezio i "semen", Varrone "*animalia quaedam minuta*", e 1500 anni più tardi Gerolamo Fracastoro, che pubblica *De contagione et contagiosis morbi* (1546) ed indica il *Contagium vivum* legato ad ipotetici *Seminaria prima*. Non Lucrezio che riecheggia con altro nome le teorie di Epicuro sulla caduta degli atomi ed il relativo "*exiguum clinamen*", ma gli altri due, probabilmente anche per considerazioni epidemiologiche, ebbero l'intuizione di qualche cosa di vivo alla base di certe malattie, ma non furono in grado di utilizzare il metodo sperimentale, che al contrario permea tutta l'opera di Agostino Bassi, che non per niente aveva seguito le lezioni dello Spallanzani e del Volta. Il Nostro aggiunse comunque al metodo sperimentale una geniale intuizione quando nel 1844 trasferì i suoi risultati all'uomo suggerendo che fossero organismi vivi a trasmettere morbillo, sifilide e peste, di cui era dimostrata la contagiosità sul piano epidemiologico, sottolineando nel 1851 "*Tutti i mali contagiosi degli animali e vegetali, compreso l'uomo, provengono da esseri parassiti*".

Nella memoria del 1835-36 appare anche un'altra anticipazione: l'indicazione dei modi per prevenire la diffusione del contagio *...modo di liberarne le bigattaje...*, principalmente mediante la distruzione dei bachi infetti e dei materiali dove erano stati coltivati: è l'antisepsi, se vogliamo un po' grossolana e drastica, circa mezzo secolo prima del Lister.

Probabilmente il Bassi non aveva la preparazione né i mezzi per una corretta sistemazione tassonomica e descrizione botanica dell'agente morboso; fu Giuseppe Balsamo-Crivelli⁴ a classificarlo come un ifomicete, di nuova descrizione, al quale diede il nome di *Botrytis paradoxa* o *bassiana*, poi, nel 1912, riclassificato dal Vuillemin come *Beauveria bassiana*.

Agostino Bassi sta nell'evoluzione della scienza fra Francesco Redi e Lazzaro Spallanzani, che dimostrano che non esiste la generazione spontanea, ma che qualsiasi forma vivente deriva da un'altra forma vivente, e Robert Koch e Louis Pasteur che *inventarono* la microbiologia. Io non so se questi ultimi conoscessero le osservazioni di Agostino Bassi, ma certo fu lui il primo non solo ad esprimere il concetto di "contagio da parte di un organismo vivente", in realtà già prospettato in precedenza, ma a dimostrarlo, e poco importa se questo contagio si svolga fra insetti, fra pecore o fra uomini.

Vi è poi un punto che voglio sottolineare: Agostino Bassi: fu un autodidatta, fece a proprie spese una gran-

de scoperta, frutto solo di genialità, senza utilizzare particolari apparati.

Beauveria (Botrytis) bassiana (1835)

Il *genus Beauveria* Classe *Euascmycetes* ordine *Clavicipitales* comprende tre sole specie, due delle quali sono parassiti degli insetti: la *B. bassiana* con conidi globosi la *B. brongniartii*, o *densa* o *tenella* con conidi ellissoidali.

La specie *B. bassiana* è patogena per gli insetti, dotata di notevole virulenza, ed è segnalata sporadicamente in infezioni polmonari di vertebrati a sangue freddo, per esempio in un alligatore americano e in una tartaruga, e nell'uomo rarissimamente come causa di cheratite, (identificata da altri come *Beauveria alba*). Vi è inoltre in letteratura il caso di ragazza di 22 anni con diagnosi di presunta tubercolosi polmonare, attribuita poi alla *B. bassiana* dopo la coltivazione di questa dal bronco-aspirato e da materiale da biopsia, che migliorò notevolmente grazie alla terapia con amphotericina B.

È infine possibile che un incremento del tasso di spore presenti nell'aria determini reazioni allergiche.

Nei terreni di coltura si sviluppa abbastanza rapidamente in colonie biancastre, tardivamente di aspetto polveroso, simili a quelle dell'*Histoplasma* e di alcuni dermatofiti. Le cellule conidiogene, rigonfie alla base, sono spesso raccolte in sporodochia o sinemata: i conidi sono prodotti prima da un lato poi dall'altro dell'ifa.

Elementi infettanti sono i conidi, resistenti agli agenti naturali di disinfezione, che aderiscono agli strati esterni della cuticola dell'insetto e in condizioni favorevoli di temperatura e umidità producono ife che, grazie ad enzimi che attaccano e sciolgono la chitina (cutina o cuticola) penetrano al di sotto di queste e qui producono una tossina, la Beauvericina, che deprime i meccanismi difensivi dell'animale, portando a morte l'insetto. A questo punto viene prodotto un antibiotico che blocca l'invasione da parte della flora intestinale, permettendo la permanenza e la ulteriore moltiplicazione del fungo, che riempie il filugello e, se l'umidità è del 92% o superiore, fuoriesce in superficie, dando l'aspetto a "white bloom" (fiore bianco): moscardino dei francesi, calcinaccio nostrale. Dalle ife prodottesi sulla superficie si formano i conidi che si liberano nell'ambiente dando origine al contagio sia diretto sia, data la resistenza nell'ambiente, mediato attraverso le strutture che ospitano i bachi⁵. Il Bassi aveva intuito questo mezzo di trasmissione e consigliava di distruggere sia i bachi morti sia le lettiere.

La *Beauveria bassiana* oltre ad infettare un gran numero di insetti può colonizzare i cereali avendo la capacità di vivere nel tessuto vascolare di questi. È stato visto che dal granturco parassitato può passare agli insetti e quindi funzionare come pesticida biologico.

⁴ Giuseppe Balsamo-Crivelli milanese laureato in zoologia e mineralogia insegnò a Pavia e, oltre alla descrizione dell'agente coltivato dal Bassi, fece varie osservazioni di notevole interesse, con la redazione di due cataloghi faunistici della Lombardia.

⁵ I phomites del Fracastoro