

IDENTIFICAZIONE DEI GRUPPI FILOGENETICI IN CEPPI DI ESCHERICHIA COLI ISOLATI DA MATERIALE UMANO DI DIVERSA PROVENIENZA

Caroppo M. S.¹, Kroumova V.¹, Grasso S.¹, Grossini E.¹, Camaggi A.¹, Ticozzi R.², Raimondi A.², Fortina G.¹

¹Azienda " Ospedale Maggiore della Carità" - Novara - Laboratorio Microbiologia e Virologia

²Università degli Studi di Milano - Dipartimento di Sanità Pubblica - Microbiologia - Virologia

Introduzione. *E. coli* è un commensale intestinale della maggior parte degli animali, uomo compreso. Alcuni ceppi possono causare una grande varietà di malattie, intestinali e non. Analisi filogenetiche hanno mostrato che esistono 4 principali genotipi (A, B1, B2 e D) e che i ceppi extraintestinali più virulenti appartengono più frequentemente ai gruppi B2 e D.

In questo lavoro sono stati esaminati ceppi di *E. coli* isolati da vari distretti dell'organismo, genotipizzandoli con un metodo rapido e semplice che utilizza tre sequenze di DNA quali markers dei diversi gruppi filogenetici (Clermont, 2000).

Metodi. Sono stati analizzati in totale 94 ceppi, isolati dal distretto ematico (25), dalle urine (32), dalle feci (25) e da campioni respiratori (12).

La genotipizzazione è stata eseguita mediante una multiplex PCR che identifica la presenza dei geni *ChuA*, *YjaA* e del frammento di DNA *TSPE.C2*. In base al pattern di positività per le tre sequenze è possibile classificare i ceppi analizzati nei diversi gruppi filogenetici. Come ceppo di controllo è stato usato *E. coli* O157:H7.

Risultati. L'analisi filogenetica ha mostrato una prevalenza dei genotipi B2 e D nelle emocolture (in entrambi i casi il 32% dei ceppi), a fronte di una maggior frequenza del genotipo A nelle feci (52%) e nei campioni respiratori (66%). Nei campioni urinari i genotipi più rappresentati sono risultati il B2 (56%) e l'A (31%).

Conclusioni. In accordo con la letteratura i genotipi B2 e D sono risultati più frequenti tra i ceppi virulenti extra-intestinali. L'analisi delle percentuali di ritrovamento dei genotipi patogeni nei vari materiali sembrerebbe suggerire che il passaggio al circolo ematico avvenga a partire dal distretto urinario per quanto riguarda i ceppi di gruppo B2 e dal distretto intestinale per i ceppi di gruppo D.

DETERMINAZIONE DEL DNA BATTERICO PER LO STUDIO DELLE INFEZIONI SUBCLINICHE IN PAZIENTI EMODIALIZZATI

Cazzavillan S.¹, Ratanarat R.³, de Cal M.³, Segala C.¹, Corradi V.³, D'Amore EGS.¹, Ronco C.³, Rassu M.²

¹U.O. Anatomia Patologica,

²U.O. Microbiologia e Virologia,

³U.O. Nefrologia, Ospedale San Bortolo, Via Rodolfi, 36100 Vicenza, Italia.

Introduzione. L'infiammazione è una causa importante di malattia/mortalità in pazienti dializzati (pz HD); tra le cause di infiammazione è stata proposta l'infezione subclinica. Scopo di questo lavoro è di correlare i markers infiammatori in pz HD e valutare la presenza di DNA batterico (bdNA).

Metodi. In 81 pz HD (59M/22F, età media 62), sono stati misurati i parametri di infiammazione e deregolazione immunitaria riportati in tabella e l'emocoltura. I pz HD sono stati divisi in GrpA (43) con cause note di infiammazione e GrpB (38) senza cause note. I risultati sono stati analizzati con t-test. Nel GrpB (29M/9F, età media 59) abbiamo valutato la presenza di bdNA (rRNA16S) mediante amplificazione e sequenza, nel sangue intero (WB), dialisato (SD) e nel filtro (compartimento sangue [BL] e dialisato [DIA]).

Risultati. Tutti gli 81 pz presentavano emocolture negative. Nel GrpB, 34/38 pz presentavano IL-6 e MFI aumentati e bdNA+ in almeno un campione. È stato riscontrato bdNA sia di batteri infettanti l'uomo che di ambientali indifferentemente nel BL e DIA. I risultati dei parametri di infiammazione sono riportati in tab 1, quelli del bdNA in tab 2.

Conclusioni. Il dato molecolare è risultato più sensibile dell'emocoltura nell'identificazione di infezioni subcliniche. La correlazione del bdNA+ con i markers infiammatori ha evidenziato nel GrpB un aumento di IL-6 e AOPP, e una diminuzione di MFI, indici di una infiammazione indotta da bdNA (citochine proinfiammatorie) e di deplezione del sistema immunitario. La determinazione del bdNA in BL e DIA è stata più efficace indicando che la membrana funge da concentratore per gli acidi nucleici. I nostri dati indicano che il bdNA può attraversare la membrana del filtro di dialisi inducendo infiammazione.

Population	markers di infiammazione/cytokine			Deregolazione immunitaria			Stress ossidativo		
	HsCRP (mg/dl)	IL-6 (pg/ml)	Albumin (g/dl)	AOPP (µM/l)	GSH (µmol/10 ⁶ cells)	RCOs (nmol/mg prot)	Apoptosis (plasma on U937 cells at 96 hr) (%)	Medium Fluorescence Intensity DR+ (MFI)	% monocytes HLA-DR+
Total (81)	1.06 ± 1.21	17.56 ± 27.34	3.86 ± 0.43	237.63 ± 136.67	5.04 ± 1.06	1.00 ± 0.56	45.14 ± 0.07	99.2 ± 40.46	96.47 ± 3.83
GrpA (43)	1.11 ± 1.27	11.08 ± 11.44	3.80 ± 0.46	217.05 ± 117.85	4.93 ± 1.08	0.99 ± 0.28	46.77 ± 0.07	91.63 ± 42.16	95.86 ± 3.97
GrpB (38)	0.99 ± 1.16	24.73 ± 36.75	3.93 ± 0.40	260.93 ± 153.51	5.17 ± 1.03	1.00 ± 0.76	44.42 ± 0.07	107.76 ± 37.14	97.17 ± 3.59
	ns	P=0.034	ns	ns	ns	ns	ns	P=0.073	ns

Tabella 1

GrpB	markers di infiammazione/cytokine			Deregolazione immunitaria			Stress ossidativo		
	HsCRP (mg/dl)	IL-6 (pg/ml)	Albumin (g/dl)	AOPP (µM/l)	GSH (µmol/10 ⁶ cells)	RCOs (nmol/mg prot)	Apoptosis (plasma on U937 cells at 96 hr) (%)	Medium Fluorescence Intensity DR+ (MFI)	% monocytes HLA-DR+
bdNA + (34)	1,06	26,41	3,93	273,62	5,17	1,0	45	103,44	97,1
bdNA - (4)	0,3	10,3	3,87	153,02	5,16	1,03	41	144,36	98,5

Tabella 2