

022

DIFFERENTE CAPACITÀ FAGOCITARIA DI MACROFAGI PERITONEALI MURINI VERSO *TREPONEMA DENTICOLA* IN CONDIZIONI ANAEROBIE E AEROBIE.

Gaibani P.¹, Vocale C.¹, Ambretti S.¹, Sambri V.¹

¹Sezione di Microbiologia, DMCSS,
Università degli Studi di Bologna.

Introduzione. *Treponema denticola* è uno dei principali microrganismi anaerobi coinvolti nella patogenesi della malattia paradontale. Di particolare interesse risulta quindi essere l'interazione che intercorre tra le spirochete orali e le cellule macrofagiche, parte integrante del sistema immune.

Metodi. *Treponema denticola* è stato coltivato in terreno NOS medium a +37 °C in condizioni di stretta anaerobiosi. La proteina maggiore di superficie (MSP) di *Treponema denticola* è stata estratta con una serie di centrifugazioni e successive estrazioni con detergenti.

Per ottenere un siero policlonale anti-MSP sono stati iniettati in coniglio 0,5 mg/ml di MSP nativa. I macrofagi sono stati estratti da topi BALB/c tramite lavaggio del peritoneo, diversi lavaggi in soluzione fisiologica e risospensione in terreno RPMI. Per le prove di fagocitosi i *Treponemi* sono stati incubati in presenza delle cellule macrofagiche, che sono state in seguito fissate a diversi tempi d'incubazione (5,10,20,40,60 minuti) in condizioni di aerobiosi e anaerobiosi. Per valutare l'efficienza della fagocitosi, le cellule macrofagiche sono state osservate in immunofluorescenza indiretta (1:300 siero anti-MSP e 1:40 anti-rabbit marcato in FITC) e contato il numero di cellule positivi per campo microscopico a 400x. Come controllo di fagocitosi è stato utilizzato *T.denticola* incubato opsonizzato in vivo con siero anti-MSP.

Risultati. La valutazione della capacità fagocitaria delle cellule macrofagiche ha dimostrato come in condizioni di stretta anaerobiosi *T.denticola* riesca a evadere in maniera rilevante la fagocitosi. Allo stesso tempo in condizioni di aerobiosi la capacità fagocitaria risulta essere aumentata di circa il 50%.

È stato osservato come nelle medesime condizioni di stretta anaerobiosi *T.denticola* opsonizzato con anticorpi specifici per MSP risulti essere fagocitato con maggiore efficienza.

Conclusioni. I dati indicano come in condizioni simili a quelle presenti all'interno della tasca subgingivale, *T.denticola* riesca a sfuggire in modo significativo alla fagocitosi delle cellule macrofagiche, confermando così precedenti risultati ottenuti dal nostro gruppo che dimostrano la capacità, in un modello di topo SCID infettato a livello endodontico, di escape extra-orale di questa spirocheta.

023

VALUTAZIONE DI UN NUOVO TEST ELISA PER LA RICERCA DI ANTICORPI ANTI-*T. PALLIDUM* NEL SIERO DI SOGGETTI AFFETTI DA DIFFERENTI STADI D'INFEZIONE LUETICA

Gaibani P., Marangoni A., Ambretti S., Sambri V.

Sezione di Microbiologia, DMCSS,
Università degli Studi di Bologna.

Introduzione. Tra i diversi approcci disponibili in laboratorio, l'utilizzo di tecniche immunoenzimatiche, quali ELISA e Western blot, per la ricerca di anticorpi anti-*Treponema pallidum*, risulta avere, ad oggi un ruolo di primaria importanza nella diagnosi microbiologica di sifilide.

Metodi. Questo studio è stato condotto su 100 differenti sieri positivi in western blot per la presenza di anticorpi specifici verso *T.pallidum* ed ottenuti da soggetti clinicamente definiti affetti da lue a diversi stadi di sviluppo. Sono stati inoltre valutati 92 sieri negativi, ottenuti da soggetti sani donatori di sangue. I campioni sono stati diluiti secondo le istruzioni del produttore del test, basato su antigeni ricombinanti adesivi a pozzetti di micropiastra, ed incubati per 1 ora a +37 °C. Dopo i prescritti lavaggi l'immunocomplesso formato è stato incubato in presenza di anticorpi coniugati con perossidasi ed i conseguenti complessi immunologici-enzimatici sono stati evidenziati dall'incubazione con substrato cromogenico specifico e conseguente reazione con sviluppo di colore.

Risultati. 102 dei 103 campioni ottenuti da pazienti affetti da sifilide e positivi quando studiati in western blot sono stati confermati positivi dal test immunoenzimatico. I 92 campioni di siero ottenuti da donatori sani di sangue sono stati correttamente identificati come negativi dal test ELISA. La concordanza tra il nuovo test ELISA (DRG Diagnostic, Germany) e il western blot, eseguito con antigeni ricombinanti (recomBlot, Mikrogen, Germany) è stata confermata ed è stata del 99.5% per i campioni da pazienti sifilitici e del 100% per i sieri da donatore sano di sangue.

Conclusioni. I dati indicano come il nuovo T.P. screen ELISA DRG test possa essere utilizzato come strumento di laboratorio microbiologico nella ricerca di anticorpi specifici anti-*T.pallidum* nel siero o nel plasma vista l'elevata sensibilità e specificità di questo nuovo metodo.