

056

### IL NUOVO SAGGIO ELISA PER LA RILEVAZIONE RAPIDA DI INFEZIONE TUBERCOLARE PUÒ ESSERE UTILIZZATO NEI BAMBINI ?

Russo C.<sup>1</sup>, Coltella L.<sup>1</sup>, Tozzi A.E.<sup>2</sup>, Menichella D.<sup>1</sup><sup>1</sup>U.O. di Microbiologia,<sup>2</sup>U.O. di Epidemiologia Ospedale Pediatrico "Bambino Gesù" - Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico

**Introduzione.** L'incidenza della Tuberculosis è stimata dall'OMS in circa nove milioni di casi/anno di cui 1 milione nei bambini. La diagnosi di Tuberculosis nel paziente pediatrico risulta difficile per la mancata evidenza di segni e sintomi tipici. Negli ultimi anni è stato messo a punto un saggio rapido in grado di valutare la quantità di Interferon- $\gamma$  rilasciato dai linfociti stimolati con antigeni specifici del *M. tuberculosis complex* direttamente da prelievo ematico QuantiFERON-TB Gold (QFT-G). Il QFT-G è stato inserito nelle linee guida statunitensi e inglesi per lo screening tubercolare. A tutt'oggi mancano dati riferibili ai pazienti pediatrici.

**Metodi.** Dal Maggio 2004 a Maggio 2006 abbiamo consecutivamente arruolato allo studio 263 pazienti valutati presso l'Ospedale Pediatrico "Bambino Gesù" per sospetta infezione o malattia tubercolare (storia di recente contatto TB, tosse persistente da più di 2 settimane, febbre non rispondente alla terapia, immagini radiologiche compatibili con lesioni polmonari o interessamento linfonodale mediastinico). I pazienti hanno ricevuto le procedure diagnostiche (microbiologiche e radiologiche) in uso presso il nostro Ospedale e, in aggiunta, è stato prelevato una aliquota di sangue eparinizzato per eseguire il test di linfostimolazione QFT-G. Lo studio è stato eseguito in cieco.

**Risultati.** 263 bambini suddivisi in: 107 pazienti ricoverati (57,9% sotto i 5 anni e 42,1% ) e 156 bambini seguiti in day Hospital (39,1% sotto 5 anni e 60,9% sopra) . I risultati QFT-G sono stato Positivo in 49 casi, Negativo in 189 e Indeterminato i 25 bambini. La sensibilità del test nei bambini al di sotto dei 5 anni di età è stata tra l'88,5% e il 95,6% e la Specificità e il Valore predittivo Positivo è stato del 100%.

**Conclusioni.** I risultati ottenuti mostrano che la popolazione pediatrica può essere candidata allo screening per la valutazione di infezione tubercolare con Test ELISA QFT-G.

057

### DECONTAMINAZIONE BATTERICA DEI SITI ALVEOLARI MEDIANTE L'UTILIZZO DEL LASER AD ERBIO

Sacchi M.C.<sup>1</sup>, Meloni M.<sup>2</sup>, Bellanda M.<sup>3</sup>, Rocchetti A.<sup>4</sup>, Canepari M.<sup>4</sup>, Caraccio V.<sup>4</sup>, Debbia E.<sup>5</sup><sup>1</sup>Ematologia, Azienda Ospedaliera, Alessandria.<sup>2</sup>Libero Professionista, Roma<sup>3</sup>Libero Professionista, Alessandria<sup>4</sup>Soc Microbiologia, Azienda Ospedaliera, Alessandria<sup>5</sup>Sez. Microbiologia, DISCAT, Università degli Studi, Genova

**Introduzione.** In odontoiatria dati di letteratura riportano l'eccellente capacità della luce laser di decontaminare i siti post-

estrattivi, a prescindere dallo stato di sepsi riscontrato. Diverse tecniche possono essere applicate nel sito implantare per ottenere una decontaminazione:

- tecnica meccanica, ottenuta con curettage dell'alveolo in abbinamento a lavaggi ed impiego di soluzione antibiotica;
- applicazione della luce laser.

Gli autori hanno deciso di utilizzare la luce laser per contribuire a rafforzare la convinzione che il laser è supporto fondamentale sia per la decontaminazione del sito estrattivo che per l'ottimizzazione dell'area ad uso implantare permettendo, pertanto, di inserire l'impianto nella stessa seduta. In questo lavoro è stata valutata la capacità decontaminante batterica del Laser Er:YAG nel sito alveolare post-estrattivo, in presenza di flogosi cronica, per un utilizzo dell'alveolo stesso ai fini implantari immediati.

**Metodi.** Sono stati presi in esame pazienti con situazioni di sepsi alveolare (parodontopatie o processi apicali). Dopo l'avulsione del dente sono stati eseguiti, mediante tamponi sulla ferita, prelievi di materiale alveolare sia prima che immediatamente dopo il passaggio del Laser Er:YAG nell'alveolo secondo un protocollo stabilito.

**Risultati.** Le analisi microbiologiche hanno dimostrato che prima dell'intervento del Laser Er:YAG nel sito operatorio erano presenti differenti specie di batteri tipiche della flogosi parodontale. Dopo il trattamento con il Laser Er:YAG si è potuto constatare una significativa riduzione della carica batterica nelle aree in esame.

**Conclusioni.** Lo studio dei casi clinici analizzati in questo lavoro ha dimostrato come l'utilizzo del Laser Er:YAG nel trattamento dei siti alveolare post-estrattivi con documentata flogosi batterica rappresenti una valida ed efficace metodologia per la decontaminazione del sito operatorio. Secondo gli autori l'impiego della luce laser permetterebbe di ottenere la garanzia biologica che il sito è efficacemente decontaminato.

058

### METODI RAPIDI ED ISOLAMENTO CULTURALE NELLO SCREENING PER STREPTOCOCCO DI GRUPPO B.

Cavrini F.<sup>1</sup>, Serra L.<sup>2</sup>, Liguori G.<sup>1</sup>, Sambri V.<sup>1</sup>, Lanari M.<sup>2</sup><sup>1</sup>Dip. Di Medicina Clinica Specialistica e Sperimentale, Divisione di Microbiologia, Università di Bologna<sup>2</sup>U.O. di Pediatria e Neonatologia, Ospedale S.Maria della Scaletta, Imola (Bologna).

**Introduzione.** In era pre-profilassi antibiotica intrapartum (IAP) lo streptococco di gruppo B (GBS) era considerato responsabile di infezioni neonatali precoci (early onset disease EOD) nel 2-3/1000 dei nati, con 5-20% di mortalità ed importanti esiti a distanza. Le linee-guida dei CDC del 2002 hanno ribadito l'efficacia dello screening culturale con tampone vagino-rettale a 35-37 settimane di EG per identificare le gravide colonizzate da sottoporre a IAP e ridurre il rischio di EOD (MMWR 2002). Una recente review (Honest H. *Pediatrics* 2006) ha valutato l'affidabilità di metodiche rapide intrapartum per l'identificazione di GBS che possano risolvere criticità metodologiche e organizzative connesse alle linee-guida dei CDC. Scopo dello studio è stato confrontare la colonizzazione da GBS mediante isolamento culturale (gold standard), con metodiche laboratoristiche differenti.

**Metodi.** 230 tamponi vaginali intrapartum sono stati valutati

mediante isolamento colturale, real-time PCR, TEST ULTIMED Strep B (metodo immunocromatografico) e STREP B OIA (saggio immunoenzimatico). Per ciascuna metodica è stata calcolata la concordanza con i risultati della coltura e con la PCR.

**Risultati.** GBS è stato identificato mediante coltura nel 11% di campioni, mediante RT-PCR nel 25%. Tra i test rapidi STREP B OIA ha dimostrato discreta concordanza con la coltura e tempi di esecuzione più rapidi della RT-PCR. I valori percentuali di concordanza positiva fra RT-PCR e coltura, e fra coltura e OIA sono stati rispettivamente del 96% e del 54%. I valori di concordanza negativa sono stati del 84% fra coltura e RT-PCR e del 78% fra coltura ed OIA. Decisamente inferiori i dati di concordanza fra metodo immunocromatografico e coltura (15% per la positività e 99% per la negatività). Fra RT-PCR ed OIA i valori di concordanza sono stati del 32% (positiva) e del 80% (negativa).  
**Conclusioni.** dati preliminari confermano la maggior sensibilità di RT-PCR rispetto a coltura; STREP B OIA ha discreta concordanza con coltura e rapidità d' esecuzione. Riteniamo dunque che STREP B OIA possa rappresentare metodica di screening da utilizzare intrapartum per individuare le gravide a cui somministrare la IAP, mentre la RT-PCR si propone come metodo rapido per lo screening intrapartum dotato di elevata sensibilità e specificità.

059

#### EFFETTO IN VITRO ED EX VIVO DEI FARMACI ANTITUBERCOLARI SUL RILASCIO DI IFN-GAMMA

Sauzullo I.; Mengoni F.; Rossi R.; Lichtner M.; Rizza M.C.; Mastroianni C. M.; Vullo V.

Dipartimento di Malattie Infettive e Tropicali,  
Università di Roma La Sapienza.

**Introduzione.** La tubercolosi si pone tuttora come una delle patologie infettive di maggiore impatto clinico ed epidemiologico per la sanità pubblica. L'obiettivo di questo lavoro è di valutare l'utilizzo del QuantiFERON-TB Gold (QFT-RD1) come parametro per il monitoraggio della terapia antitubercolare e studiare l'eventuale interferenza in vitro di tali farmaci nel rilascio di IFN- $\gamma$ .

**Metodo.** 34 soggetti con conferma clinico-microbiologica di infezione tubercolare, sono stati valutati con il test QFT-RD1, eseguendo prelievi ematici prima dell'inizio della terapia (T0), durante e a fine trattamento (T1-T2-T3). Per l'interferenza con i farmaci antitubercolari: aliquote di 500ml di sangue eparinato sono state stimolate con PHA (10 $\mu$ g/ml) e incubate per 18h a 37°C con Streptomina, Isoniazide, Rifampicina ed Etambutolo a 4 concentrazioni seriali a raddoppio: INH 5 $\mu$ g/ml, RIF 7 $\mu$ g/ml, ETB 5 $\mu$ g/ml, STR 40 $\mu$ g/ml. Il rilascio di IFN- $\gamma$  è stato quantificato mediante saggio ELISA.

**Risultati.** Tutti i pazienti avevano un risultato positivo al test al tempo T0. Le determinazioni eseguite durante la terapia specifica (T1-T2-T3) mostrano che in 16 pazienti (47%) il test risulta negativo a fine trattamento terapeutico (Media IFN- $\gamma$ : 4,26UI/ml al T0; 3,68UI/ml al T1; 1,23UI/ml al T2; 0,07UI/ml al T3).

In 18 pazienti (52%), il test risulta ancora positivo durante il trattamento; in particolare in 10 soggetti si è evidenziato un decre-

mento di IFN- $\gamma$  prodotto (7.41 UI/ml al T0; 4,37UI/ml al T1; 2,23UI/ml al T2) mentre in 8 si è evidenziato un incremento di IFN- $\gamma$  prodotto (2.96 UI/ml al T0; 5.60UI/ml al T1).

Gli esperimenti in vitro con i farmaci antitubercolari hanno evidenziato inoltre una downregolazione dose-dipendente sul rilascio di IFN- $\gamma$ .

**Conclusioni.** La negativizzazione del test a fine trattamento terapeutico nei 16 pazienti, unito ad un outcome clinico favorevole, evidenzia un possibile utilizzo del test ai fini del monitoraggio. Gli esperimenti in vitro pongono l'attenzione sull'eventuale interferenza dei farmaci sul rilascio di IFN- $\gamma$ .

060

#### SIEROIMMUNOLOGIA DI TREPONEMA PALLIDUM: VALUTAZIONE DI UN NUOVO SISTEMA QUALI/QUANTITATIVO IN CHEMILUMINESCENZA AUTOMATIZZATO

Savino O., Greco F., Tenuta R., Orrico F., Senatore C., Gallo M., Palermo M., Giandomenico A.M., Noto A., Giraldi C.

Microbiologia e Virologia, Ospedale Annunziata, AO Cosenza

**Introduzione.** Il *Treponema pallidum* è un batterio elicoidale, mobile appartenente alla famiglia delle Treponemataceae. E' l'agente eziologico della Sifilide, una malattia a trasmissione venerea la cui diagnosi è prevalentemente sierologica. La diagnosi si basa sulla ricerca di anticorpi specifici (treponemici) e di anticorpi aspecifici antilipoidei (non treponemici). I primi sono il TPHA (Treponema Pallidum Haemoagglutination Assay) e l'FTA ABS (Fluorescent Treponemal Antibody Absorption Test). Il TPHA saggia gli anticorpi totali specifici diretti contro il *Treponema Pallidum*, mentre l'FTA-ABS permette di differenziare la presenza delle IgG e delle IgM. La VDRL (Venereal Diseases Research Laboratory) è un test non treponemico che utilizza come antigene la cardiolipina, estratto lipidico del cuore di bue.

È un test altamente sensibile, poco specifico, ed è utilizzato nel monitoraggio terapeutico.

**Metodi.** Sono stati sottoposti ad indagine n. 100 pazienti provenienti dalla routine del nostro laboratorio.

Su tutti i campioni sono stati eseguiti i seguenti test: VDRL (LTA), TPHA (Biosystems), FTA-ABS IgG e IgM (Alphadia).

Gli stessi campioni sono stati processati con il test qualitativo Liaison Treponema Screen (Dia Sorin). Il test si basa sul principio del dosaggio a uno step ed impiega la tecnologia di rilevazione in chemiluminescenza con valutazione dei risultati quali/quantitativi espressi in index.

**Risultati.** I 100 pazienti esaminati comparativamente con test convenzionali (TPHA, VDRL, FTA-ABS) e Liaison Treponema Screen hanno dato i seguenti risultati: n. 64 negativi concordemente con tutte le metodiche utilizzate, n. 33 positivi sia ai test convenzionali che al Liaison Treponema Screen e n. 3 discordanti, con concordanza di positività in FTA-ABS e Liaison Treponema Screen e sieronegatività a TPHA.

**Conclusioni.** Il test Trep-DiaSorin ha dimostrato una buona concordanza con i metodi convenzionali soprattutto nei riguardi di FTA-ABS, inoltre, nelle nostre mani ha mostrato ottime performance quali facilità e rapidità d'esecuzione, superando i tempi di refertazione dei test tradizionali spesso legati all'interpretazione soggettiva dei risultati.