

IL FORUM DI MM

Le recenti elezioni per il rinnovo di tutte le cariche sociali, hanno messo ancora una volta in evidenza la scarsa partecipazione dei Soci all'assemblea plenaria e, in generale, a queste manifestazioni istituzionali. Non ci esprimiamo sulle ragioni che hanno portato a questo disamore, ma piuttosto vorremmo fare un invito a tutti gli iscritti a non assumere tale atteggiamento che porta di fatto ad un distacco sempre più ampio tra le cariche istituzionali e i Soci.

Al contrario, la nostra Rivista oggi può fornire un esempio positivo di collaborazione.

In seguito all'invito rivolto ai Soci durante il Congresso Nazionale di Roma, è stato subito riscontrato un aumento del numero dei lavori ricevuti in redazione e nello stesso tempo si è instaurata un'incoraggiante e fattiva collaborazione con i lettori.

È chiaro quindi che i nostri Soci hanno immediatamente capito l'importanza di comunicare le loro esperienze lavorative attraverso il Giornale dell'Associazione e lo hanno fatto con entusiasmo.

È come se il muro del silenzio tra i lettori e la Rivista si fosse improvvisamente infranto.

Questo fatto induce ad un cauto ottimismo sul percorso intrapreso dalla Rivista che pure si pone il non facile obiettivo di essere recensita a livello internazionale. Gli Editors, inoltre, sono stati incoraggiati sulla validità di certe iniziative prese, basate sul dialogo con i lettori.

Pertanto, tenendo presente questo esempio, invitiamo ancora una volta i Soci ad esprimere il loro punto di vista sugli spazi che la Rivista mette a disposizione e che servirà senz'altro a stimolare tutti ad una più attenta riflessione sui nostri problemi.

Infine, confidiamo che coloro ai quali è stata delegata la responsabilità di guidare l'Associazione non ignorano le preferenze accordate a questa forma di comunicazione.

**EUGENIO A. DEBBIA
e CLAUDIO PIERSIMONI**

RASSEGNA *Bibliografica*

A INFEZIONI MATERNO FETALI E NEONATALI a cura di GIGLIOLA FLAMMINIO

Nwachuku N, Gerba CP. Health risks of enteric viral infections in children. Rev Environ Contam Toxicol, 2006; 186: 1-56.

Nei bambini, rispetto agli adulti, è maggiore il rischio di infezioni virali enteriche per numerose ragioni. La più importante è il sistema immunitario immaturo che è necessario per il controllo del processo infiammatorio. Questa differenza può comportare un'evoluzione più grave della malattia rispetto all'adulto che presenta un sistema immunitario maturo. Ci sono significative differenze fra adulti e bambini sia a livello psicologico che comportamentale con maggiore rischio di esposizione a patogeni enterici. Sebbene molti virus enterici causino infezioni miti o asintomatiche, essi possono determinare malattie più invasive nei bambini. Il picco di incidenza della maggior parte delle malattie enteriche nei bambini è al di sotto dei due anni di età. Queste infezioni sono molto serie fino a causare anche mortalità. Anche a livello fetale si può avere infezione da enterovirus o da virus epatitici con conseguente morte fetale o malattia. Oggi è comunque possibile immunizzarsi attivamente nei confronti del virus dell'epatite A mentre il vaccino per il rotavirus è attualmente ritirato a causa di effetti collaterali nei bambini. Per gli altri enterovirus non sono disponibili altre immunizzazioni. Le infezioni enteriche sono comuni nei bambini. Molti bambini sono infettati da rotavirus durante i primi due anni di vita. L'incidenza dell'infezione da enterovirus e da virus enterici si aggira dal 10% al 40% nei bambini ed è direttamente proporzionale all'età. Mediamente più della metà delle malattie enteriche sono asintomatiche. L'incidenza dell'infezione da virus dell'epatite A è molto più bassa rispetto alle diarree enteriche

virali che, peraltro, risultano avere anche un maggiore impatto sulla spesa sanitaria pubblica.

Chow SS, Craig ME, Jacques CF, Hall B, Catteau J, Munro SC, Scott GM, Camaris C, McIver CJ, Rawlinson WD. Correlates of placental infection with cytomegalovirus, parvovirus B19 or human herpes virus 7. J Med Virol 2006 Jun; 78(6): 747-56.

La trasmissione verticale virale è un'importante causa di malattia nel feto e nel neonato. L'infezione placentare virale indica rischio di trasmissione verticale, ma non sempre trasmissione o malattia del feto. Campioni di madri e bambini di tre gruppi normal più un gruppo in cui erano evidenziate precedenti infezioni, sono stati testati per patogeni utilizzando test di biologia molecolare (multiplex PCR). Le infezioni placentari erano presenti nel 13% dei 105 campioni esaminati. Nei primi tre gruppi il 4% delle placente mostrava infezione da CMV, il 1% da Parvovirus B19 e il 1% da Ureaplasma parvum. Nel gruppo retrospettivo, in cui l'alto rischio di trasmissione di infezione congenita era documentato anche da una sierconversione durante la gravidanza, si erano isolati: CMV nel 64% ed Herpes Virus 7 nel 9% delle placente. Tra le 14 placente positive per PCR, due erano state associate alla nascita di bambini sintomatici, due con bambini nati prematuri, una con un aborto spontaneo e due con neonati a termine. La valutazione, da parte del laboratorio, di donne ad alto rischio per trasmissioni di infezioni congenite è conseguente all'utilizzo di più test diagnostici e può comunque essere utile nella valutazione globale. È indubbio, da questo studio, che il patogeno maggiormente implicato risulti essere il CMV.

De Mol AC, Vrancken S, Eggink AJ, Verduyn Lunel FM, Warris A. The first newborn with congenital rubella syndrome during the rubella epidemic in The Netherlands in 2004/05. Ned Tijdschr Geneesk, 2006 Apr 1; 150(13): 741-6.

Alla nascita ad un neonato maschio è stata diagnosticata

la sindrome da rosolia congenita. Sua madre, età 31 anni, ha avuto un esantema durante la gravidanza (circa sette settimane prima del termine). La donna non era stata vaccinata per la rosolia e non l'aveva mai contratta. L'infezione è stata confermata sierologicamente. Il neonato alla nascita presentava ittero, microencefalia, immaturità, epatosplenomegalia ed esantema. A livello cardiologico si presentavano difetti del setto ventricolare e dotto arterioso aperto. Le ossa presentavano delle striature caratteristiche "a gambo di sedano". A livello cerebrale si avevano calcificazioni multiple. Il neonato era completamente sordo nell'orecchio destro e aveva gravemente compromesso l'udito in quello sinistro. Dopo l'introduzione del vaccino per la rosolia in Olanda nel 1974 c'è stata una significativa diminuzione dell'incidenza dell'infezione rubeolica. Si è registrata un'epidemia di rosolia nella popolazione non vaccinata dal settembre 2004. Il riconoscimento dei sintomi clinici e la conferma del sospetto di infezione attraverso i metodi di diagnosi sono necessari per controllare la diffusione di focolai epidemici e per prevenire gli eventi secondari. I bambini con la rosolia congenita sono comunque un serbatoio per i soggetti non immuni poiché il virus viene eliminato con le feci e con le urine.

Stiller I, Pusztai R, Sombor E, Orosz L, Pal A, Tarodi B. Prevalence and avidity of human herpesvirus-6 specific IgG antibodies in pregnant women in Hungary. *Acta Microbiol Immunol Hung.* 2006 Mar; 53(1): 25-34.

La prevalenza, il titolo e l'avidità degli anticorpi IgG specifici del virus herpes 6 (HHV-6) sono stati esaminati in donne gravide e in donne donatrici di pari età. Il gruppo di studio consisteva di 180 donne di età compresa fra i 14 ed i 45 anni. Sessanta donne presentavano una gravidanza normale, sessanta avevano un sospetto di infezione virale fetale e sessanta non erano mai state incinte. I campioni di siero e di plasma venivano testati per gli anticorpi di tipo IgG verso il HHV-6 con un test di immunofluorescenza. Il 98% delle donatrici ed il 97% delle donne incinte presentavano anticorpi verso il virus. Il rapporto di positività anticorpale era lo stesso sia nelle donne con gravidanza normale sia in quelle con sospetta infezione fetale. Il titolo anticorpale nelle donne gravide era significativamente più basso rispetto alle donatrici. Anticorpi con avidità bassa delle IgG verso il HHV-6 sono stati riscontrati solo nel 5% delle donne in gravidanza.

B INFEZIONI MATERNO FETALI E NEONATALI

a cura di LIDIA RICCI

Honest H, Sharma S, Khan KS. Rapid tests for group B *Streptococcus* colonization in laboring women; a systematic review. *Pediatrics* 2006 Apr; 117(4): 1055-66.

Tutti conoscono l'importanza della prevenzione neonatale per le infezioni da *Streptococcus* di gruppo B e, pertanto, è da ritenersi di sicuro interesse questo studio nel quale sono stati analizzati sei metodi utilizzati per lo screening della donna gravida. L'indagine è stata condotta secondo i criteri della medicina basata sull'evidenza (EBM):

Revisione della letteratura

- Confronto dei test in studio con il gold standard
- Calcolo dei risultati utilizzando la tabellina 2x2
- Calcolo dei valori di likelihood ratio positivi e negativi

e. Analisi dell'accuratezza dei test.

Gli autori hanno eseguito una revisione sistematica, includendo 29 studi che analizzavano in totale 15.691 gravide. I sei test esaminati sono stati: PCR (polymerase chain reaction), Immunologia ottica (OIA), ibridizzazione del DNA, test immunoenzimatico, agglutinazione al lattice, utilizzo del terreno ISLAM.

I test più accurati sono risultati PCR ed il metodo OIA.

L'analisi del rapporto costo/beneficio di questi due near-patient-test sembra indicarne un possibile impiego nella pratica clinica.

Miyariri I, Causey KT, Devincenzo JP, Buckingham SC. Group B *Streptococcal* Ventriculites: A Report of Three Cases and Literature Review. *Pediatr Neurol* 2006 May; 34(5): 395-9.

In questo studio sono stati descritti tre casi di ventricolite neonatale causata da *Streptococcus* di gruppo B e confrontati poi con altri sette casi descritti precedentemente in letteratura. In genere l'infezione acuta da *Streptococcus* di gruppo B si manifesta con segni e sintomi evidenti, tuttavia da questa ricerca emergono aspetti clinici importanti.

Sei casi tra quelli descritti non erano caratterizzati da specifici segni e sintomi e la febbre era assente.

L'esame biochimico del liquor (CSF) evidenziava un valore elevato di proteine ed un abbassamento del glucosio coerentemente con lo stato infiammatorio che caratterizza la meningite.

Tutti i neonati svilupparono un idrocefalo ostruttivo che richiedeva l'applicazione di shunt ventricolare. Si registrò un decesso e sei tra i neonati analizzati mostrarono significativi deficit neurologici.

I casi clinici descritti rilevano le gravi conseguenze della meningite causata da *Streptococcus* di gruppo B che può presentarsi anche in forma silente.

Gli autori sottolineano l'importanza di un'attenta sorveglianza dei neonati per eseguire una diagnosi precoce seguita da adeguata terapia.

Van Rostenberhe H, Noraida R, Wan Pauzi WI, Habsah H, et al. The clinical picture of neonatal infection with *Pantoea* species. *JPN J Infect Dis.* 2006 Apr; 59(2): 120-1. Gli autori descrivono un caso d'infezione sistemica da *Pantoea* spp. che aveva interessato otto neonati e che non erano mai stata precedentemente descritta in letteratura. L'infezione era conseguente all'utilizzo di nutrizione parenterale e si era manifestata subito in forma grave con rapida evoluzione a setticemia, shock ed insufficienza respiratoria. L'interessamento polmonare causava una grave sindrome di distress ed emorragia. L'antibiogramma, eseguito in vitro, mostrava buona sensibilità dell'isolato di *Pantoea* spp. alle varie classi d'antibiotici, invece in vivo non si otteneva un'efficace attività terapeutica, tanto che sette neonati morirono (87.5%) ed uno solo tra gli otto neonati presenti nell'Unità di Terapia Intensiva Neonatale riuscì a sopravvivere.

ADAMS-Chapman I, Stoll BJ. Neonatal infection and long-term neurodevelopmental outcome in the preterm infant. *Curr Opin Infect Dis.* 2006 Jun; 19(3): 290-7.

Gli autori hanno eseguito una revisione di tutti i dati disponibili in letteratura per valutare l'associazione tra infezioni e conseguente sviluppo neurologico nei neonati pretermine. I dati dello studio indicano che ora sono abbastanza conosciute le relazioni che legano lo stato d'infezione alla risposta infiammatoria dell'organismo ed ai conseguenti danni

neurologici che si riscontrano in neonati di peso molto basso e nati pretermine. È frequente nel neonato pretermine il riscontro d'infezione contratta in utero o subito dopo la nascita e numerosi meccanismi biochimici caratterizzano lo stato d'infiammazione, infezione e sviluppo di patologie quali la corioamnionite, sepsi, enterocolite necrotizzante, ritardo dello sviluppo mentale e della crescita. Lo sviluppo cerebrale ed in particolare quello della zona periventricolare è influenzato dalla produzione di sostanze citotossiche e ipotossiche liberate in corso d'infezione. Le conseguenze possono essere a carico delle funzioni cognitive e motorie. L'infezione, infatti, può causare emorragia intraventricolare e leucomacia periventricolare (PVL) e poiché la PVL è caratterizzata da perdita di tessuto cerebrale, il neonato può sviluppare seri problemi mentali o motori. Si riscontra anche frequente mortalità ed è importante continuare a studiare tutti i meccanismi biochimici cellulari implicati nel processo infiammatorio, onde sviluppare strategie d'intervento che possono neutralizzare l'attività citotossica.

Turner D Hammarman C, Rudensky B, Schlesinger C, Schimmel MS. Procalcitonina in preterm infants during the first few days of life: introducing an age related nomogram. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.2006 Mar 17.

Scopo di questo studio è stato quello di monitorare il valore di Procalcitonina (PCT) su 100 neonati prematuri, per un periodo di 4 giorni dalla nascita. I neonati sono stati suddivisi in quattro gruppi secondo le loro condizioni. L'età gestazionale dei neonati era compresa fra 32+/- 2,9 settimane ed il loro peso era compreso fra 1682 +/-500 grammi. I valori della procalcitonina differivano notevolmente tra i due gruppi di neonati che erano caratterizzati da un'età gestazionale di 24-30 settimane o 31-36 settimane. Il valore più alto si registrava a 28 ore dalla nascita e si normalizzava nell'arco dei quattro giorni successivi. Con i dati ottenuti è stato costruito un nomogramma in cui si sono evidenziati due dati interessanti:

1. Nei dodici neonati infetti il valore di procalcitonina aumentava del 95%
2. Erano sempre normali i valori registrati al momento della nascita.

Da un'analisi multivariata si riscontrava che l'età gestazionale, la rottura prematura delle membrane, lo stato di sepsi influenzavano fortemente il livello di procalcitonina. Non c'era invece alcuna correlazione con lo stato infettivo della madre. Alla luce dei risultati si può concludere che la procalcitonina può essere utilizzata come marcatore di sepsi o altre infezioni ma non ha alcun valore predittivo quando la determinazione è eseguita al momento del parto.

Garges HP, Moody MA, Cotten CM, Smith PB, Tiffany KF et al. Neonatal meningitis: what is the correlation among cerebrospinal fluid cultures, blood cultures, and cerebrospinal fluid parameters? Pediatrics 2006 Apr;(4):1094-100.

Interessante questo studio che analizza i parametri biochimici riscontrabili nel liquor di neonati con sospetta meningite. Sono stati analizzati i dati concernenti 9111 neonati sottoposti a puntura lombare. Tutti i neonati erano stati concepiti dopo la 34-ima settimana di gestazione ed erano ricoverati in un'Unità di Terapia Intensiva Neonatale. Nello studio sono stati confrontati i dati della coltura del liquor con quelli della coltura di sangue (emocultura) e con

i parametri biochimici del liquor (cellule, glucosio, proteine), onde stabilire se era riscontrabile una correlazione significativa.

I risultati dello studio indicano che:

- a. La meningite era confermata dalla coltura del liquor in 95 soggetti (1%).
- b. Tra i 95 neonati, 92 avevano eseguito anche l'emocultura, riscontrata però positiva solo in 57 neonati.
- c. L'agente eziologico isolato dalla coltura del liquor ed anche dall'emocultura era uguale in tutti i casi tranne due.
- d. La conta delle cellule nel liquor mostrava una sensibilità del 79% ed una specificità dell'81%.
- e. La determinazione del glucosio e delle proteine non sempre correlava con la positività della coltura.

Dall'analisi dei dati si evince che nei neonati con meningite non è sempre riscontrabile un'alterazione dei parametri biochimici del liquor e di positività dell'emocultura, pertanto è necessario effettuare una continua osservazione dei neonati a rischio.

Maxwell NC, Davies PL, Kotecha S. Antenatal infection and inflammation: what's new? Curr Opin Infect Dis.2006 Jun; 19(3): 253-8.

Gli autori analizzano i dati della letteratura recente relativamente ad infezioni prenatali ed infiammazioni che possono causare parto prematuro, morbidità del neonato pretermine, sviluppo di gravi sequele e danni cerebrali.

Tutte le strategie messe in atto per prevenire il parto prematuro qualora vi fosse all'interno della cavità uterina un'invasione di batteri con conseguente replicazione ed infiammazione, non sembrano aver dato esito favorevole. Molte specie batteriche sono implicate in questi processi e da studi recenti è stato riconosciuto un ruolo importante all'attività degli Ureaplasmi nel provocare parto prematuro e morbidità neonatale.

Non sono ancora stati messi a punto dei protocolli terapeutici adeguati per evitare le gravi conseguenze di queste infezioni tra le quali si registra anche il ritardo mentale.

August Fuhr N, Becker C, van Baalen A, Bauer K, Hopp H. Antibiotic therapy for preterm premature rupture of membranes - results of a multicenter study. J Perinat Med 2006; 34(3): 203-6.

In questo studio randomizzato e controllato, eseguito in doppio cieco, sono state analizzate 105 gravide con PROM tra 24-32-ima settimana di gestazione. È stata valutata l'efficacia della somministrazione di mezocillina nel prolungare la gravidanza e diminuire il tasso di morbidità neonatale. La dose di mezocillina somministrata era pari a 3x2g/die mentre nel gruppo di controllo è stata utilizzata una sostanza ad effetto placebo. Questi sono i risultati elaborati dagli autori:

- a. la terapia con mezocillina ha determinato un prolungamento della gravidanza di un periodo superiore a 7 giorni nel 63.8% dei soggetti contro il 44.8% dei soggetti del gruppo di controllo. (P<0.05).
- b. I neonati delle madri sottoposti a trattamento hanno manifestato un minor numero d'infezioni, di distress (RDS), emorragia intraventricolare (IVH), ed enterocolite necrotizzante (NEC).
- c. La morbidità neonatale è stata significativamente più bassa (P=0.02) quando le madri erano state trattate con antibiotico.

Fridkin SK, Kaufman D, Edwards JR, Shetty S, Horan T. Changing incidence of Candida bloodstream infections among NICU patients in the United States :1995-2004. Pediatrics 2006 May; 117: 1680-7

Da studi recenti emerge un incremento d'infezioni fungine da miceti fluconazolo-resistenti nella popolazione adulta e gli autori di questo lavoro hanno valutato l'incidenza annuale d'infezioni neonatali da Candida spp. negli Stati Uniti. Sono stati inclusi nello studio i neonati ricoverati in 128 Unità di Terapia Intensiva Neonatale nel periodo gennaio 1995-dicembre 2004.

Sono stati analizzati tutti i casi di sepsi da Candida spp. relativamente ai giorni di ricovero, alla presenza di catetere vascolare ed al basso peso del neonato.

I risultati sono stati espressi in numero d'infezioni da Candida spp. per 100 pazienti ed il tasso d'incidenza per 1000 giorni-paziente.

L'attenta analisi dei dati ha evidenziato che:

1. Sul totale di 130523 neonati analizzati le infezioni sistemiche da Candida spp. erano 1997.
2. Tra queste, 1472 erano riscontrate in neonati di basso peso (<100grammi)
3. La specie più comune era Candida albicans seguita da C. parapsilosis, C. tropicalis, C. lusitaniae, C. glabrata e in solo tre casi C. krusei.
4. Nei neonati di basso peso l'incidenza d'infezioni da miceti decresceva da 3.51/1000 giorni paziente a 2.68.
5. nel periodo 1995-1999, rimaneva invece stabile nel periodo 2000-2004.
6. Non si osservava incremento di positività dovute a C. glabrata e Krusei notoriamente resistenti a fluconazolo, contrariamente a quanto riscontrato nei soggetti adulti.

Pinna GS, Skevaki CL, Kafetzis DA. The significance of Ureaplasma urealyticum as a pathogenic agent in the paediatric population. Current Opin Infect Dis 2006 Jun; 19(3): 283-9.

Questa revisione della letteratura recente illustra i vari aspetti che caratterizzano gli Ureaplasmi coinvolti nelle infezioni neonatali. Ureaplasma urealyticum è un commensale del basso tratto genitale di donne sessualmente attive e la trasmissione perinatale da donne colonizzate può causare parto prematuro ed infezioni neonatali. La diagnosi infettivologica può essere eseguita attraverso la coltura, la PCR (Polymerase Chain Reaction) e la determinazione sierologica anticorpale. Le conseguenze dell'infezione neonatale includono polmoniti, alterazioni del sistema nervoso centrale (SNC) sepsi, osteomieliti. L'infezione può evolvere a stato di cronicità o provocare decesso. Le manifestazioni più tardive comprendono polmoniti, e differenti tipologie di artrite. Studi ben eseguiti hanno dimostrato che il trattamento farmacologico della gravida colonizzata non è in grado di prevenire il parto pretermine, tuttavia è raccomandato il trattamento con macrolidi della donna con PROM (rottura prematura delle membrane). Altro dato interessante emerso dalla letteratura scientifica è che il trattamento con eritromicina non riduce l'incidenza di cronicità nel neonato con infezioni da Ureaplasmi a carico dell'apparato respiratorio. Allo stato attuale non disponendo di mezzi efficaci per prevenire questo tipo d'infezioni è raccomandato l'uso di tetracicline, fluorochinoloni, e di sostanze antinfiammatorie per il trattamento d'infezioni a carico del SNC o di sepsi e di artriti.

INFEZIONI SESSUALMENTE TRASMISSIBILI

a cura ANNA CALÌ

per il **COMITATO DI STUDIO AMCLI DELLE
INFEZIONI SESSUALMENTE TRASMESSE
(CoSIST)**

F Burckhardt, P Warner and H Young

What is the impact of change in diagnostic test method on surveillance data trends in Chlamydia trachomatis infection?

Sex. Transm. Inf. 2006; 82: 24-30.

Recenti dati mostrano un considerevole incremento della prevalenza di infezione da Chlamydia trachomatis in Inghilterra; ma tale incremento potrebbe risultare viziato se il numero annuale della popolazione testata aumenta, mentre la popolazione di riferimento (denominatore) rimane costante. Questo effetto può essere ulteriormente esacerbato se vengono inclusi soggetti con più alti fattori di rischio, come i contatti dei casi positivi, o anche dall'introduzione di test con maggiore sensibilità.

Parecchi studi hanno riportato un incremento di incidenza dopo l'introduzione di metodi in amplificazione genica (NAAT), ma l'interpretazione dei trend raramente ne tiene conto e, per le politiche di sorveglianza e controllo, è indispensabile conoscere il vero aumento della prevalenza, indipendentemente dalle modifiche nella diagnostica di laboratorio.

Questo studio, che fa riferimento ai dati di 12 anni di sorveglianza (gennaio 1992-dicembre 2003) in una popolazione afferente ad una clinica di medicina genito-urinaria, si propone di valutare appunto l'impatto del cambiamento di metodica, dalla coltura ai da NAAT (settembre 1998), sulla percentuale dei risultati positivi per Chlamydia trachomatis.

La relazione tra il risultato dell'esame ed età, sesso, anno di esecuzione e tipo di metodica era analizzata usando modelli multivariabili di regressione logica.

Il 6.1% di donne e il 7.1% di maschi risultavano positivi con la coltura contro il 9.9% e l'11.1% rispettivamente positivi con il NAAT che corrisponde ad un incremento del 56% per gli uomini e del 67% per le donne, confermando che l'incremento di positività è fortemente associato al tipo di metodica usata indipendentemente dall'aggiustamento per anno del test, per il sesso e la giovane età, anche se non tutto è da ascrivere all'effetto diretto dell'aumentata sensibilità, esistono infatti altri effetti indiretti che incrementano il riscontro di infezioni esistenti.

I dati di sorveglianza cumulativa dovrebbero perciò includere sempre il timing di introduzione dei NAAT, così da tener conto della sottostima con i metodi precedenti.

Caroline M. Gazzard, Bappsc (med tech),* Robyn N. Wood, Bappsc (med tech), *Joseph Debattista, Phd,†† John A. Allan, Mbbs, Fracog,§ Janet M. Allan, Mbbs,§ and Peter Timms, Phd†

Use of a Commercial Assay for Detecting the 60 kDa Chlamydial Heat Shock Protein in a Range of Patient Groups Sexually Transmitted Diseases, February 2006; 33(2): 77-9.

Numerose evidenze implicano la 60 kDa Chlamydial Heat

Shock Protein (cHSP60) come l'antigene responsabile di stimolare infiammazione immuno-mediata e malattia, per lo più attraverso studi che riportano un incremento di anticorpi anti-cHSP60 tra le donne con l'aggravarsi dell'infezione genitale da Chlamydia trachomatis.

Donne con malattia infiammatoria pelvica (PID) mostravano una diretta correlazione tra alti titoli anticorpali e severità delle manifestazioni infiammatorie; e studi condotti su donne infertili mostravano correlazione tra ab-cHSP60 e infertilità tubarica.

Questo ha comportato lo sviluppo di vari test, commerciali o realizzati in casa, per la loro determinazione come potenziale mezzo diagnostico per studiare l'infertilità e le patologie tubariche.

Una recente lettera pubblicata da Bax ed altri segnala il valore di un nuovo test commerciale come mezzo per predire le sequele patologiche delle infezioni urogenitali da Chlamydia, comparando la sierologia di donne con patologie tubariche con quella di donne in gravidanza e di donne senza patologie.

In questo lavoro gli autori riportano una simile valutazione dello stesso test applicato a un più ampio range di gruppi di donne con varie storie e sequele di infezione da C. trachomatis, e controlli non infetti. Sono presi in considerazione 4 gruppi di donne: quelle con un precedente storia di infezione da C. trachomatis, quelle con endometriosi (infertilità non dovuta a Chlamydia), adulte non infette e bambine non infette.

I risultati della determinazione degli ab-cHSP60, effettuata usando un test commerciale "Medac cHSP60-IgG-ELISA", porta gli autori alle seguenti conclusioni: il test è chiaramente incapace di distinguere tra i vari stadi dell'infezione da Chlamydia (acuta, post-acuta, reinfezione e danno tubarico); non c'è correlazione tra quelle sierologicamente positive per C. trachomatis e anticorpi anti-cHSP60, inoltre il test è incapace di distinguere tra le infezioni attive di una delle 3 specie di Chlamydia. Gli autori concludono che sebbene la rilevazione di cHSP60 può risultare utile, in alcune circostanze, come test aggiuntivo nei soggetti con infezione da Chlamydia, la sua incapacità di distinguere tra le specie e gli stadi dell'infezione ne limita il suo valore per determinare la patologia correlata a C. trachomatis.

Justin Hardick,1* Julie Giles,1 Andrew Hardick,1 Yu-Hsiang Hsieh,2 Thomas Quinn,1,3 and Charlotte Gaydos1

Performance of the Gen-Probe Transmission-Mediated Amplification Research Assay Compared to That of a Multitarget Real-Time PCR for Mycoplasma genitalium Detection

Journal Of Clinical Microbiology, Apr. 2006; 44(4): 1236-40.

Mycoplasma genitalium può causare uretrite non gonococcica, è stato associato ad endometrite e cervicite ed implicato come causa di diverse sindromi, la cui eziologia non è attribuibile alle maggiori infezioni sessualmente trasmesse. Varie metodiche in PCR e real-time PCR hanno migliorato la capacità diagnostica per il Mycoplasma genitalium, vista la difficoltà della coltura, anche se sono spesso necessari test di conferma, che richiedono ulteriore tempo e risorse. L'impiego di test discordanti, spesso eseguiti su subset di campioni, è stato criticato perché può introdurre errori statistici in termini di sensibilità e specificità; l'uso di target multigenici potrebbe costituire una valida alternativa, integrando ricerca e verifica ad un costo

inferiore.

Utilizzando due diversi target genici, l'MgPa e il 16S rRNA, gli autori hanno sviluppato una Multi-Target Real-Time (MTRT) PCR per Mycoplasma genitalium usata per studiare la performance del test TMA GenProbe, che ha come bersaglio l'MG rRNA. Tutti i campioni, 286 urine dai maschi e 321 tamponi vaginali da autoprelievo, sono stati raccolti in duplicato e saggiati con entrambi i test. Questi i risultati dello studio:

MTRT PCR, sensibilità 91.8%, specificità 99.5%, PPV 98.1%, NPV 98.2%;

Gen-Probe TMA-MG sensibilità 98.1%, specificità 98.1%, PPV 92.3%, NPV 99.5%.

Entrambi i test risultano molto accurati nella rilevazione del Mycoplasma genitalium dai campioni esaminati e la comparazione tra i due test, con l'analisi statistica kappa, rileva un valore di concordanza di 0.941. Gli autori concludono che la metodica Gen-Probe TMA-MG ha il potenziale di offrire ai clinici un ottimo supporto commercialmente disponibile per le future ricerche sul M. genitalium.

E. Athena Limnios, Nhu-Lan Nguyen, Sanghamitra Ray, Christopher J. McIver, and John W. Tapsall*

Dynamics of Appearance and Expansion of a Prolyliminopeptidase-Negative Subtype among Neisseria gonorrhoeae Isolates Collected in Sydney, Australia, from 2002 to 2005

Journal Of Clinical Microbiology, Apr. 2006; 44(4): 1400-4.

I test di conferma per l'identificazione di Neisseria gonorrhoeae comprendono quelli che si basano su patterns di utilizzazione dei carboidrati, le reazioni di coagglutinazione su base immunologia e test su substrati cromogenici. La prolyliminopeptidasi (PIP), definita anche hydroxyproline aminopeptidasi (HPA o Pro) in alcuni kit commerciali, utilizzata da sola o combinata con altri test, è considerata un elemento chiave per l'identificazione del gonococco; numerosi report mostrano un'alta sensibilità di questa reazione, anche se nessuno studio di valutazione esamina un ampio range di ceppi da diverse fonti, nel tempo.

A partire dal 2003 venivano isolati in Australia un certo numero di gonococchi PIP-negativi, nello stesso periodo simili osservazioni erano fatte in Nuova Zelanda; precedentemente un simile aumento di gonococchi PIP-negativi era stato riportato in Inghilterra, Danimarca e Svezia, con ceppi strettamente correlati.

In questo lavoro vengono riportati i risultati di un ampio studio (3.926 ceppi di gonococco isolati, dal Luglio 2002 al Settembre 2005, a Sydney, Australia) intrapreso per esaminare la prevalenza di gonococchi PIP-negativi, le dinamiche della loro espansione la diffusione nel tempo in questo definito contesto e i sottotipi identificati. Vengono discusse le implicazioni di questi riscontri rispetto all'uso di questa reazione per la conferma di N. gonorrhoeae.

La loro comparsa, il picco e il declino seguiva una curva "epidemica"; al picco della loro prevalenza, febbraio-Marzo 2003, i gonococchi PIP-negativi, costituivano il 22% di tutti gli isolati e 162/165 presentavano fenotipi strettamente correlati.

Dal momento che la frequenza del loro riscontro può variare molto nel tempo e nei vari paesi, si raccomanda che gli algoritmi per la conferma dei gonococchi dovrebbero tener conto di questa variabilità ed è indispensabile che 2 o più distinti metodi di conferma dovrebbero esser disponibili in laboratorio.

VIROLOGIA - HIV

a cura di MANUELA PEGORARO

Sepkowitz KA. One Disease, Two Epidemics - AIDS at 25. *New England Journal of Medicine*. 2006 June 8; 354 (23): 2411-4.

Merson MH. The HIV - AIDS Pandemic at 25. *New England Journal of Medicine*. 2006 June 8, 354 (23): 2414-17

Questi due brevi Lavori tracciano il bilancio di 25 anni di epidemia da HIV. Si tratta evidentemente di un bilancio drammatico ed inquietante per vari aspetti. Sotto il profilo numerico innanzitutto: 65 milioni di persone si sono ammalate, 25 milioni sono morte, 40 milioni è la stima attuale degli infetti (il 64% dei quali vive in Africa sub-sahariana), con una prevalenza di infezione nel sesso femminile che è passata da 7 milioni nel 1995 a più di 17 milioni nel 2005; sotto il profilo, poi, di politica sanitaria globalmente intesa: l'Autore del primo Lavoro citato descrive la diffusione pandemica dell'infezione come un "effetto domino", cui il mondo avrebbe assistito, incapace di utilizzare l'esperienza acquisita in un paese per contrastare efficacemente la diffusione dell'infezione in un altro, mentre M. Merson, nel secondo Lavoro, prima di illustrare successi e difficoltà del "Programma Globale per l'AIDS" (di cui fu direttore esecutivo dal 1990 al 1995) e poi dell'UNAIDS (promosso dalle Nazioni Unite), sinteticamente definisce la risposta sanitaria nelle prime due decadi epidemiche, come "...lenta, insufficiente, inconsistente e spesso inappropriata". Dal punto di vista umano, inoltre, l'infezione è stata e continua ad essere fonte di emarginazione e discriminazione per gli stili di vita (abuso di droghe e promiscuità sessuale) cui viene associata; dal punto di vista sociale infine, l'HIV è responsabile, a 25 anni di distanza dalla definizione di "sindrome da immunodeficienza acquisita", di due diverse epidemie: nei paesi industrializzati i problemi legati all'infezione da HIV sono rappresentati dagli effetti (in termini di tossicità e farmacoresistenza) di una terapia antiretrovirale prolungata, mentre nei paesi sottosviluppati a tutt'oggi solo un quinto dei pazienti può curarsi e si sperimentano approcci diversi (come la circoncisione e la terapia antierpetica per ridurre le ulcere genitali) nel tentativo di limitare la trasmissione del virus. Sicuramente gli ultimi cinque anni hanno visto un rinnovato impegno nella lotta alla pandemia AIDS concretizzatosi nell'aumento dei fondi stanziati dalla Banca Mondiale, nella nascita del "Fondo Globale per la lotta all'AIDS, Tubercolosi e Malaria", nella campagna lanciata da organizzazioni non governative per la riduzione del prezzo dei farmaci antiretrovirali. Sepkowitz, tuttavia, conclude il Lavoro sostenendo che soltanto quando la comunità internazionale riuscirà ad accettare il fatto evidente di una pandemia a trasmissione essenzialmente sessuale (ricorda la sifilide che veniva chiamata "male italiano" dai francesi e "male francese" dagli italiani), programmi efficaci di prevenzione potranno essere realizzati.

EPATITI VIRALI

a cura di VALERIA GHISETTI

La'ulu SL, Roberts WL. The analytic sensitivity and mutant detection capability of six hepatitis B surface antigen assays. *Am J Clin Pathol*. 2006 May; 125(5): 748-51.
È nota la diversa sensibilità che hanno i test immunometri-

ci per la ricerca dell'antigene di superficie (HbsAg) del virus dell'epatite B, nei confronti di mutazioni di HbsAg. Gli Autori analizzano e confrontano la sensibilità analitica e le performance di diversi test per la ricerca di HbsAg (ARCHITECT, AUSZYME MONOCLONAL e AxSYM della ditta Abbott Diagnostics, ADVIA Centaur della Bayer Diagnostics, Test System 3 e VITROS Eci della Ortho, nei confronti sia della forma selvaggia di HbsAg sia di forme mutate a livello della regione che codifica per il determinante "a" nell'ambito del gene S. I sistemi ADVIA Centaur, Test System 3 e VITROS Eci hanno dimostrato sensibilità simile nei confronti dell'antigene nativo HbsAg, ma tutti e tre non hanno identificato forme mutate di HbsAg nella posizione 145 nel domain "a" del gene S. Test System 3 e VITROS Eci avevano fallito anche l'identificazione di altri mutanti nelle posizioni 143 e 144 sempre del domain "a". Al contrario, i sistemi ARCHITECT, AUSZYME e AxSYM avevano rivelato tutte le varianti mutate di HbsAg. Gli Autori concludono sulla necessità di ulteriori studi che chiarifichino il ruolo e la prevalenza delle mutazioni della regione S di tipo "escape", e sulla necessità che i test diagnostici per HbsAg siano in grado di rivelare tutte le varianti.

Coleman PF. Detecting hepatitis B surface antigen mutants. *Emerg Infect Dis*. 2006 Feb; 12(2): 198-203.
Analisi delle varianti del virus dell'epatite B che presentano mutazioni nell'epitopo immunodominante dell'antigene di superficie HbsAg. Tali varianti si replicano anche in presenza di una risposta immunitaria di tipo neutralizzante e tendono a sovrastare il ceppo selvaggio la cui replicazione è, al contrario ridotta a livelli minimi. Lo sviluppo di queste varianti della regione S è molto temuto e rappresenta una sfida per i test immunometrici che ricercano l'HbsAg, dando origine a risultati falsi negativi. L'Autore espone i criteri per una corretta valutazione dei test immunometrici per HbsAg in rapporto alla loro capacità di rilevare i ceppi di HBV mutati sulla regione S.

Matthews SJ. Entecavir for the treatment of chronic hepatitis B virus infection. *Clin Ther*. 2006 Feb; 28(2): 184-203.
Entecavir, recentemente approvato dalla FDA alla dose di 1 mg/die per trattamento dell'epatite cronica da virus B (HBV), è un farmaco molto promettente in quanto attivo sia su mutanti lamivudino - che adefovir-resistenti. Gli Autori effettuano una revisione critica degli studi pubblicati dal 1996 al 2005 sull'utilizzo dell'Entecavir da cui si evidenzia come il farmaco è in grado di inibire in modo altamente selettivo la replicazione di HBV, con percentuali di resistenza basse (intorno al 6% dopo 48 settimane di terapia, anche se su un substrato di resistenza alla lamivudina, questa percentuale tende ad essere maggiore. La ridotta suscettibilità ad Entecavir richiede la compresenza di più mutazioni di cui le 4 più segnalate sono: M250V, I169T, T184G, S202I. Lo sviluppo di resistenza per le mutazioni T184G e S202I da studi in vitro, è maggiore se queste si manifestano su un background di resistenza a lamivudina.

Schildgen O, Sirma H, Funk A, Olotu C, Wend UC, Hartmann H, Helm M, Rockstroh JK, Willems WR, Will H, Gerlich WH. Variant of hepatitis B virus with primary resistance to adefovir. *N Engl J Med*. 2006 Apr 27; 354(17): 1807-12.

Gli Autori descrivono tre casi di pazienti che manifestavano resistenza primaria ad Adefovir dovuta ad una rara mutazione in posizione 233 della reverse-transcriptase (rtI233V).

Questa variante adefovir-resistente si è dimostrata invece sensibile al tenofovir, analogo nucleotidico che agisce sia sui ceppi di HBV resistenti a lamiduvina che ad adefovir e per il quale sono molto rare le segnalazioni di farmacoresistenza. Unica segnalazione di ridotta suscettibilità in vitro al tenofovir è legata ad una mutazione in posizione rtA194T.

Stoeckl L, Funk A, Kopitzki A, Brandenburg B, Oess S, Will H, Sirma H, Hildt E.

Identification of a structural motif crucial for infectivity of hepatitis B viruses. Proc Natl Acad Sci U S A. 2006 Apr 25; 103(17): 6730-4.

Gli Autori propongono un meccanismo di infezione unico per tutti gli hepadnavirus che comporta l'internalizzazione del virus attraverso un processo di endocitosi mediata dal legame tra particolari proteine contenute sulla superficie virale e recettori cellulari, seguita dalla processazione delle proteine di superficie del virus nell'endosoma, tappa fondamentale perché si realizzi l'infezione produttiva. Le proteine di superficie degli hepadnavirus contengono peptidi altamente conservati, che agiscono come fattori di internalizzazione e traslocazione del virus dentro le cellule. Esperimenti nelle anatre hanno rivelato come l'inattivazione di queste proteine note come TLM non interferisce con il ciclo del virus che si riproduce sempre, ma i virioni non sono più infettanti. La produzione di virus mutanti per TLM ha evidenziato che HBV viene internalizzato nell'endosoma cellulare dove le proteine di superficie e le TLM vengono processate da proteasi e quindi esposte sulla superficie del virus. Lo smascheramento delle TLM consente il passaggio di HBV attraverso le membrane cellulari come è stato osservato in miscoscopia cofocale, in primis da quelle endosomiali al citosol, requisito fondamentale perché avvenga l'infezione produttiva.

Olinger CM, Venard V, Njyou M, Oyefolu AO, Maiga I, Kemp AJ, Omilabu SA, le Faou A, Muller CP. Phylogenetic analysis of the precore/core gene of hepatitis B virus genotypes E and A in West Africa: new subtypes, mixed infections and recombinations. J Gen Virol. 2006 May; 87(Pt 5): 1163-73.

Analisi della regione preCore/core del virus dell'epatite B in 122 isolati da pazienti provenienti dai principali stati dell'Africa occidentale. Il genotipo riscontrato più frequentemente è stato quello E (sottotipi D1 e D2), seguito dal genotipo A. La variabilità genetica della regione preC/core era maggiore nel genotipo A rispetto a quello E. La bassa variabilità genetica della regione preC/core nel genotipo E suggerisce un'evoluzione relativamente recente di questo genotipo a differenza invece del genotipo A, in cui la diversità genetica è invece molto più marcata. Gli strain di genotipo A provenienti da Cameroon, Mali e Nigeria sono stati raggruppati filogeneticamente in tre sottotipi: A3 e due nuovi, A4 e A5, con una diversità genetica tra sottotipi compresa tra il 2 e il 3.8%. Gli Autori segnalano anche l'esistenza di fenomeni di ricombinazione tra genotipi, in particolare E ed A, ma anche D ed A e infezioni miste da più genotipi virali (17% dei pazienti), per lo più A ed E, in particolare nel Cameroon (37% di infezioni miste da genotipi A ed E), in bambini sieropositivi per HIV.

Liu CJ, Chen BF, Chen PJ, Lai MY, Huang WL, Kao JH, Chen DS. Role of hepatitis B viral load and basal core promoter mutation in hepatocellular carcinoma in hepatitis B carriers. J Infect Dis. 2006 May 1; 193(9):

1258-65.

La progressione dell'epatite cronica da virus B (HBV) e lo sviluppo del carcinoma epatocellulare (HCC) dipendono da molti fattori virali, la cui interazione tra essi e l'ospite rimane del tutto sconosciuta. Gli Autori studiano retrospettivamente l'interazione tra fattori virali e dell'ospite in 160 pazienti con epatite cronica da HBV confrontati con 200 con HCC HBV-correlato. Il sesso maschile, l'età avanzata, l'infezione da HBV genotipo C, le mutazioni delle regioni precore A1896 e promoter del core (BCP) T1762/A1764 e cariche virali >10(5) copie/ml sono le caratteristiche che più significativamente sono risultate associate allo sviluppo di HCC. In particolare, le mutazioni della regione promoter del core A1762/G1764 e cariche virali >10(5) copie/ml sono state associate ad un rischio relativo di sviluppare HCC >30, indipendentemente dalla presenza o meno della mutazione A1896 della regione precore e dal genotipo virale. Gli Autori concludono che i livelli di carica virale (>10(5) copie/ml) e le mutazioni della regione BCP T1762/A1764 giocano un ruolo importante nei meccanismi di carcinogenesi epatica indotti da HBV.

Illoeje UH, Yang HI, Su J, Jen CL, You SL, Chen CJ; Risk Evaluation of Viral Load Elevation and Associated Liver Disease/Cancer-In HBV (the REVEAL-HBV) Study Group. Predicting cirrhosis risk based on the level of circulating hepatitis B viral load. Gastroenterology. 2006 Mar; 130(3): 989-91.

Ampio studio prospettico effettuato a Taiwan su una coorte di 3582 pazienti con infezione da virus B (HBV) seguiti per 11 anni, per valutare la relazione tra i livelli di viremia (HBV DNA) e la progressione a cirrosi. 365 pazienti (10%) nel corso degli anni avevano sviluppato la cirrosi. L'incidenza di cirrosi aumentava in rapporto alla carica virale dei pazienti valutata al momento dell'ingresso nello studio, passando da 4.5% a 36.2% per i pazienti con meno di 300 copie/ml e più di 10(6) copie/ml (p<0.001). I livelli di HBV DNA rappresentavano il marcatore più predittivo di progressione a cirrosi con i seguenti rischi relativi: 2.5; 5.6 e 6.5 per quote di HBV-DNA comprese tra 10(4) e 10(5); tra 10(5) e 10(6); e >=10(6) copie/ml. Anche questo studio, sulla scia di altri apparsi recentemente, attesta come la progressione da epatite cronica a cirrosi aumenta in modo significativo in rapporto all'aumentare dei livelli di HBV DNA, indipendentemente dallo stato di HBeAg-positività o negatività e che il livello di virus circolante è la variabile virale più importante per lo sviluppo di cirrosi.

Entecavir versus lamivudine for patients with HBeAg-negative chronic hepatitis B. N Engl J Med. 2006 Mar 9; 354(10): 1074-6.

Entecavir in studi di fase 2 si è dimostrato un potente e selettivo antivirale per i pazienti con epatite cronica da virus B (HBV) HbeAg-negativi. Gli Autori presentano i dati dell'efficacia del farmaco in uno studio clinico randomizzato di fase 3, su 648 pazienti HbeAg-negativi non precedentemente trattati con antivirali. I pazienti sono stati randomizzati per ricevere 0.5 mg/d di entecavir o 100 mg/d di lamivudina per 52 settimane. L'end-point primario per la valutazione dell'efficacia del farmaco era il miglioramento del quadro istologico (diminuzione di almeno due punti dello score di Knodell, senza peggioramento della fibrosi), valutato alla 48a settimana. Tale miglioramento si è avuto in 208/296 pazienti (70%) in trattamento con entecavir rispetto a 174/287 pazienti del gruppo lamivudina (61%,

$p=0.01$). Il 90% dei pazienti trattati con entecavir non aveva più HBV DNA nel siero mediante metodica di PCR, contro il 72% di quelli trattati con lamivudina ($p<0.001$). La risposta biochimica intesa come normalizzazione degli enzimi epatici (ALT) c'è stata nel 78% dei pazienti trattati con entecavir contro il 71% nel gruppo lamivudina ($p=0.045$). La riduzione media dei livelli di HBV DNA dal valore basale è stata maggiore nel gruppo entecavir (5.0 log copie/ml rispetto a 4.5 log, $p<0.001$) in cui non sono stati evidenziati fenomeni di resistenza al farmaco. Gli Autori concludono che l'efficacia dell'entecavir nei pazienti con epatite cronica da virus B HBeAg-negativi, è superiore alla lamivudina in termini di risposta istologica, virologica e biochimica, in assenza di fenomeni di resistenza.

Chang TT, Gish RG, de Man R, Gadano A, Sollano J, Chao YC, Lok AS, Han KH, Goodman Z, Zhu J, Cross A, DeHertogh D, Wilber R, Colonna R, Apelian D; BEHoLD A1463022 Study Group. A comparison of entecavir and lamivudine for HBeAg positive chronic hepatitis B. *N Engl J Med.* 2006 Mar 9; 354(10): 1001-10. Entecavir è un potente analogo guanosinico con attività selettiva contro il virus dell'epatite B. Vengono riportati i risultati di uno studio clinico randomizzato di fase 3, riguardante 715 pazienti con epatite cronica B HBeAg-positivi non precedentemente trattati, in cui l'efficacia di entecavir (0.5 mg/die) viene confrontata con quella della lamivudina (100 mg/die) in 52 settimane di trattamento. End-point primario era il miglioramento del quadro istologico (diminuzione di almeno due punti dello score di Knodell, senza peggioramento della fibrosi), valutato alla 48a settimana. End-point secondari erano la riduzione dell'HBV DNA, la perdita di HBeAg e la sierconversione ad anti-Hbe e la normalizzazione degli enzimi epatici (ALT). Il miglioramento del quadro istologico si è verificato nel 72% dei pazienti trattati con entecavir, rispetto al 62 di quelli trattati con lamivudina ($p=0.009$). Nel gruppo trattato con entecavir la negativizzazione dell'HBV DNA (valutazione mediante PCR) è stata significativamente maggiore (67% contro 36%, $p<0.001$) e anche la normalizzazione dei livelli di ALT (68% vs. 60%, $p=0.02$). La riduzione media di HBV DNA dal valore basale alla 48a settimana è stata maggiore nei pazienti trattati con entecavir (6.9 vs. 5.4 log copie/ml, $p<0.001$), mentre la perdita di HBeAg è stata simile nei due gruppi (21% nel gruppo entecavir vs. 18% in quello lamivudina). Non è stata registrata nessuna forma di resistenza ad entecavir e gli effetti collaterali sono stati contenuti e molto simili per entrambi i farmaci. Gli Autori concludono che l'efficacia dell'entecavir nei pazienti con epatite cronica da virus B HBeAg-positivi, è superiore alla lamivudina in termini di risposta istologica, virologica e biochimica, in assenza di fenomeni di resistenza.

Benhamou Y, Fleury H, Trimoulet P, Pellegrin I, Urbinelli R, Katlama C, Rozenbaum W, Le Teuff G, Trylesinski A, Piketty C; TECOVIR Study Group. Anti-hepatitis B virus efficacy of tenofovir disoproxil fumarate in HIV-infected patients. *Hepatology.* 2006 Mar; 43(3): 548-55. Il farmaco tenofovir disoproxil fumarato (TDF) ha una attività in vitro molto potente contro il virus dell'epatite B. Gli Autori pubblicano i risultati di uno studio retrospettivo in cui viene valutata l'efficacia di TDF alla dose di 300 mg/die, nell'ambito della terapia antiretrovirale effettuata in una coorte di 65 pazienti con coinfezione HIV/HBV (83% HBeAg-positivi) di cui il 70% resistenti a lamivudina, che

avevano ricevuto TDF per almeno 6 mesi. Nei pazienti HBeAg-positivi la riduzione mediana dal valore basale dei livelli di HBV DNA è stata di 4,6 log copie/mL mentre in quelli HBeAg-negativi è stata di 2,5 log copie/mL e al termine dello studio (12 mesi di follow-up dei pazienti), non era più rivelabile la viremia nel 29% dei pazienti HBeAg-positivi (4 mostravano anche la clearance di HBeAg e in 2 c'è stata la sierconversione ad anti-Hbe) e nell'82% di quelli HBeAg-negativi. Gli Autori concludono che TDF nei pazienti HIV positivi con coinfezione da HBV, ha una efficacia molto importante nei confronti sia del ceppo selvaggio, sia di quello e-minus di HBV, sia anche dei ceppi lamivudino-resistenti.

Hussain M, Fung S, Libbrecht E, Sablon E, Cursaro C, Andreone P, Lok AS. Sensitive line probe assay that simultaneously detects mutations conveying resistance to lamivudine and adefovir. *J Clin Microbiol.* 2006 Mar; 44(3): 1094-7.

Valutazione di confronto tra sequenziamento diretto della regione della polimerasi del virus dell'epatite B e del metodo INNO-LiPA HBV DR v2 per identificare mutazioni virali comportanti la resistenza ad adefovir e lamivudina. I criteri di valutazione sono stati la precocità di rilevazione delle resistenze e il pattern di resistenza genotipica rivelato dai due metodi rispetto all'andamento clinico in una serie di pazienti trattati con i due farmaci. Il test INNO-LiPA HBV DR v2 ha dimostrato ottima concordanza con il sequenziamento nell'evidenziare mutazioni sia a lamivudina che adefovir e di rilevarle più precocemente che il sequenziamento diretto della polimerasi che richiede da 2 a 6 mesi in più di latenza. È evidente, però, che solo il sequenziamento della regione della polimerasi è l'unico metodo che consente di evidenziare pattern completi di mutazioni note, meno note e non note che si verificano nel corso del trattamento antivirale e questo è un aspetto importante in rapporto all'introduzione di nuovi farmaci attivi contro il virus B. L'analisi di come si sviluppano le mutazioni in corso di terapia sequenziale lamivudina ® adefovir depone a favore dell'associazione dei due farmaci anziché dell'uso sequenziale, per creare una barriera genetica molto più forte nei confronti della tendenza del virus a sviluppare mutazioni resistenti ai due farmaci.

Raimondo G, Brunetto MR, Pontisso P, Smedile A, Maina AM, Saitta C, Squadrito G.

Longitudinal evaluation reveals a complex spectrum of virological profiles in hepatitis B virus/hepatitis C virus-coinfected patients. *Hepatology.* 2006 Jan; 43(1): 100-7. La coinfezione da virus dell'epatite B (HBV) e C (HCV) si associa spesso a quadri di epatite severa. Gli Autori pubblicano i risultati di uno studio longitudinale mirante a comprendere le complesse interazioni tra i due virus, effettuato su 133 pazienti con coinfezione HBV/HCV di cui 30 anche con coinfezione da virus Delta (HDV), seguiti per un anno, in cui sono stati effettuati ogni due mesi esami biochimici e virologici per HBV, HDV e HCV. Nel gruppo HDV-negativo (103 pazienti) segni di infezione attiva sia da HBV che HCV erano presenti in 24 pazienti, assenti in 15, segni di attività di solo HBV in 15 casi, di solo HCV in 49. Molti soggetti presentavano viremie fluttuanti sia di HBV che di HCV e solo intensivi prelievi sequenziali hanno consentito di definire meglio la dinamica dei virus. Nel gruppo HDV-positivo, 15 casi su 30 avevano segni di infezione attiva da HBV e/o HCV, con pattern fluttuanti in 8 casi. Gli

Autori concludono che nelle duplici e triplici coinfezioni da HBV, HCV e HDV i pattern virologici sono variabili, fluttuanti e che una corretta diagnosi di attività delle infezioni da HBV e HCV, per stabilire la strategia terapeutica più corretta, può essere fornita solo da un monitoraggio serrato delle viremie nel tempo.

Sun C, Jin XL, Xiao JC. Oval cells in hepatitis B virus-positive and hepatitis C virus-positive liver. *Histopathology*. 2006 Apr; 48(5): 546-55.
Studio ultrastrutturale per evidenziare e localizzare la pre-

senza delle cellule ovali nelle cirrosi da virus dell'epatite C e B, mediante immunomicroscopia elettronica con marcatori di differenziazione epatocitaria e marcatori di totipotenza (CD34). Cellule ovali sono state identificate nei duttoli biliari proliferanti di entrambi i tipi di cirrosi, sia da virus B che C. Tali cellule esprimevano in entrambi i tipi di cirrosi solo marcatori di differenziazione in senso epatocitario. Con la progressione della flogosi, il numero di cellule ovali aumentava significativamente, a testimonianza di un ruolo chiave svolto da tali cellule nei processi di rigenerazione patologica del tessuto epatico, come accade nella cirrosi.

MYCOBACTERIOLOGICAL news

**BOLLETTINO A CURA DEL GRUPPO DI LAVORO MICOBATTERI AMCLI GlMic
Prof. Ferruccio Mandler**

MYCONEWS ANNO 6; NUMERO 1: GENNAIO-FEBBRAIO-MARZO 2006

www.MycobacToscana.it-<http://digilander.libero.it/CRRM>,
<http://www.ao-careggi.toscana.it/microbiologia/CRRM>
www.amcli.it
www.italbioforma.com

SELEZIONE BIBLIOGRAFICA

Biologia molecolare - batteriologia: aspetti non molecolari - igiene - immunologia sierologia - terapia, farmaci, azione in vitro-clinica - Notizie disordinate

BIOLOGIA MOLECOLARE

Sanguinetti M, Novarese L, Posteraro B, Ranno S, De Carolis E, Pecorini G, Lucignano B, Ardito F, Fadda G. Use of microelectronic array technology for rapid identification of clinically relevant Mycobacteria-*J Clin Microbiol* 2005; 43(12): 6189-6196.

Gli AA dell'Università Cattolica e del Bambin Gesù di Roma pubblicano: "Abbiamo sviluppato un nuovo metodo basato su tecnologia array microelettronica nanochip per la identificazione delle diverse specie micobatteriche. rRNA geni amplificati con PCR ottenuti da 270 colture MGIT positive sono state ibridizzate con probes selettivi per specie ed i risultati sono stati in accordo con quelli ottenuti con i metodi convenzionali. Il sistema risulta rapido ed accurato ed apre nuove prospettive nella diagnostica clinica". Ricaviamo dal lavoro i seguenti particolari:

*il metodo impiega Nanochip Molecular Biology Workstation (Nanogen Inc., San Diego CA) e lo strumento impiega un microchip semiconduttore che incorpora un 10-by-10 array di microelettrodi rivestiti con uno strato permeabile contenente streptoavidina per il trasporto rapido e la concentrazione di molecole di acido nucleico negativamente caricate attraverso una selettiva applicazione di un bias elettronico positivo idoneo a selezionare. L'acido nucleico va indotto immobilizzato con diretto attacco alla strato di permeabilizzazione e posto a ibridizzare con un acido nucleico e la identificazione si esegue con probes fluoresceinati. La regione 205bp è stata amplificata.

*il lavoro è stato compiuto su probes multipli specie selet-

tivi rivolti alla epidemiologia delle micobatteriosi;

*i risultati ottenuti riconfermano le osservazioni di Westin et al (2001) con i limiti della ricerca dei probes idonei;

*è possibile saggiare 100 test simultaneamente
La tecnica è dettagliatamente esposta

Piersimoni C, Olivieri A, Benacchio L, Scarparo C. Current perspectives on drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* complex: the automated non-radiometric systems. *J Clin Microbiol* 2006; 44(1): 20-28. La minirivista passa in rassegna i sistemi esistenti. Bactec MGIT 960, MB/BacT, Versa Trek con analisi di risultati, modalità, letteratura. Ai lettori di queste NEWS che ovviamente rimandiamo al testo per una conoscenza precisa riportiamo le valutazioni conclusive del lavoro. È responsabilità del microbiologo di assicurare che un valido controllo di qualità venga eseguito di routine in modo da valutare le procedure, l'affidabilità dei reagenti e l'efficienza del personale. Un elemento critico del controllo di qualità è la selezione di ceppi di referenza geneticamente stabili per i quali i risultati di sensibilità sono ben documentati. In questo contesto l'impiego del ceppo H37Rv(ATCC 27294) è raccomandato in modo corrente da CLSI. Inoltre quando si saggiavano ambedue le concentrazioni critiche (bassa) ed alta il ceppo ideale di riferimento dovrebbe essere uno in grado di crescere a bassa concentrazione ma sensibile alla concentrazione elevata. Sfortunatamente questo ceppo di riferimento utile a questo proposito non è disponibile. Alternativamente ceppi isolati in laboratorio con le caratteristiche sopra citate possono venir impiegati ma per motivi di sicurezza l'uso di questi ceppi spesso multi drug resistenti non è raccomandato. I test del controllo di qualità dovrebbero venir eseguiti almeno una volta alla settimana nei laboratori che eseguono i test, giornalmente o settimanalmente o sempre nel caso che un isolato venga testato. La partecipazione in un controllo di qualità esterno inclusi MTC ceppi a basso livello di resistenza all'INI e resistenza ad altri farmaci di prima linea è fortemente raccomandata. In più con l'adozione dei nuovi metodi di test i laboratori dovrebbero validare i risultati del test eseguendo il test corrente sotto indagine ed i nuovi metodi in parallelo per