

# OPINIONI

di EUGENIO A. DEBBIA

La nostra Associazione è molto cresciuta negli ultimi anni, e di questo dobbiamo sicuramente ringraziare l'attività di tutto lo staff dirigenziale e dei soci che hanno attivamente collaborato nell'ambito dei comitati, gruppi di lavoro, delegazioni regionali ecc.

Poiché ritengo si possa fare sempre meglio credo che nei prossimi anni si debba lavorare per ottenere altri importanti traguardi. Vorrei, in particolare, che la nostra Associazione fosse più presente, si manifestasse di più, facesse sentire la propria voce, come fanno molte altre Società Scientifiche o Associazioni di Categoria, negli eventi che in qualche misura richiamano la nostra presenza.

Cito, ad esempio, episodi come quello della SARS, oppure quelli su ripetuti casi di infezioni da meningococco, ma anche semplicemente esprimere il punto di vista dell'AMCLI sulla diffusione delle resistenze agli antibiotici ecc...

Questo anche con brevi note da inviare ai principali quotidiani, io sono certo che l'opinione pubblica gradirebbe conoscere la posizione della Nostra Associazione su eventi di questa portata.

Un altro aspetto che ritengo importante riguarda la nostra presenza nei Comitati di Controllo per le Infezioni Ospedaliere. Io non sono in grado di conoscere tutte le realtà locali ma, per quello che mi consta, a livello regionale l'AMCLI è del tutto assente in forma ufficiale in questi Comitati. Ritengo che sia molto importante che la nostra Associazione tramite il Delegato Regionale o un suo incaricato sia parte in causa di questi Gruppi di Lavoro facendo presente quali sono le linee guida e le direttive ufficiali della Società.

Altro punto importante riguarda la presenza dell'Associazione in tutti i Laboratori di Microbiologia Clinica, noi sappiamo che non basta iscriversi ad una Associazione per divenire dei professionisti, quindi è estremamente importante che l'AMCLI abbia modo di conoscere e valutare quali professionisti operano nei vari Laboratori di Microbiologia. Si tratta in pratica di intervenire per correggere e soprattutto per fornire aiuto, se richiesto, per garantire uno standard di qualità, degno di questo nome, attraverso i componenti di questa Società.

## BIBLIOGRAFIA *selezionata*

### ANTIMICROBICI

a cura di SERGIO FRUGONI

#### CEFPODOXIME

Brook I. Microbiology and antimicrobial management of sinusitis. *J Laryngol Otol.* 2005 Apr; 119(4): 251-8.

*Nelle sinusiti croniche, la terapia di elezione è amoxicillina + ac.clavulanico o metronidazolo associato a penicillina. I principali microrganismi responsabili di sinusite cronica sono S. aureus e batteri anaerobi, mentre le sinusiti acute hanno come principali agenti eziologici S. pneumoniae, H. influenzae, M. catarrhalis.*

*Pseudomonas aeruginosa rappresenta un potenziale patogeno emergente in pazienti immunocompromessi portatori di cateteri nasali od intubati. Tra i microrganismi responsabili di sinusiti, numerosi sono i ceppi produttori di beta-lattamasi.*

*L'autore ha valutato protocolli di terapia utilizzando classe di antibiotici differenti da quelli di elezione quali chinolonici (soprattutto gatifloxacina e moxifloxacina) e cefalosporine di seconda generazione. Tra queste ultime, cefpodoxime ha dato risultati soddisfacenti.*

Liu P, Fuhrherr R, Weeb AI, Obermann B, Derendorf H. Tissue penetration of cefpodoxime into the skeletal muscle and lung in rast.

*Eur J Pharm Sci.* 2005 May 16

*Gli autori hanno voluto con questo lavoro, studiare la farmacocinetica di cefpodoxime nei tessuti interstiziali di ratto per mezzo di microdialisi e valutazione della relazione tra*

*livelli liberi di farmaco nel plasma e nei tessuti. La media di proteina legante cefpodoxime nel plasma di ratto è stata del 38%. L'emivita nel plasma, muscolo e polmone sono risultate simili, circa 5 ore. Dopo infusione costante, le concentrazioni libere di cefpodoxime nel muscolo e nel polmone sono state praticamente identiche, ma più basse rispetto a quella plasmatica.*

Tristram SG, Bozdogan B, Appelbaum PC.

Disc diffusion-based screening test for extended-spectrum beta-lactamases in *Haemophilus influenzae*.

*J Antimicrob Chemother.* 2005 Apr; 55(4): 570-3

*Gli autori descrivono i loro studi sperimentali per la rilevazione di ceppi di H. influenzae produttori di beta-lattamasi a spettro allargato con tecnica in agar diffusione con doppio disco. Dischetti di cefpodoxime e amoxicillina/ac.clavulanico possono essere utilizzati con successo per la rilevazione di screening di ceppi di H. influenzae produttori di beta-lattamasi a spettro allargato.*

Liu P, Muller M, Grant M, Obermann B, Derendorf H.

Tissue penetration of cefpodoxime and cefixime in healthy subjects.

*J Clin Pharmacol.* 2005 May; 45(5): 564-9

*In volontari, sono state somministrate per via orale cefpodoxime e cefixime. Utilizzando tecniche in microdialisi, gli autori concludono che cefpodoxime raggiunge una concentrazione tissutale d'organo superiore a cefixime.*

Ishii Y, Rimura S, Alba J, Shiroto K, Otsuka M, Hashizume N, Tamura K, Yamaguchi K.

Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Shiga*

toxin gene (Stx1)-positive *Escherichia coli* O26:H11: a new concern.

J Clin Microbiol. 2005 Mar;43(3):1072-5

Prima segnalazione in assoluto di un ceppo Di E. coli STEC produttore di beta-lattamasi ad ampio spettro. Gli autori hanno isolato da feci di una piccola paziente, un ceppo di *Escherichia coli* caratterizzato dalla presenza del gene *Stx1* (STEC). Il ceppo è risultato resistente a cefpodoxime e ad altre cefalosporine e monobactamici a concentrazioni >256 mcg/mL. In presenza di 4 mcg di acido clavulanico, il ceppo mostrava una CMI nei confronti di cefotaxime <0,12 mcg/mL, indicando che il ceppo poteva essere un produttore di beta-lattamasi a spettro allargato. Ulteriori indagini genetiche hanno permesso di evidenziare i geni di resistenza alle betalattamine confermando che il ceppo di *E. coli* STEC in studio era produttore di beta-lattamasi a spettro allargato.

Pichichero ME, Casey JR.

Acute otitis media: making sense of recent guidelines on antimicrobial treatment.

J Farm Pract. 2005 Apr; 54(4):313-22.

Nonostante l'aumento di resistenze dei batteri responsabili della patologia, il farmaco di scelta nell'otite media è amoxicillina con dosaggio di 80-90 mg/kg/die diviso in due somministrazioni. Per episodi ricorrenti le linee guida raccomandano l'utilizzo di amoxicillina/ac.clavulanico ad alto dosaggio, cefpodoxime, cefdinir, cefprozil, cefuroxime o ceftriaxone.

Gli autori fanno notare che aumentare il dosaggio di amoxicillina non copre comunque da infezioni da microrganismi beta-lattamasi produttori, mentre utilizzare il farmaco protetto con ac.clavulanico o scegliere una cefalosporina stabilizzata con buona attività nei confronti di *S. pneumoniae* aumenta la probabilità di successo.

## EPATITI VIRALI

a cura di VALERIA GHISSETTI

Salmon-Ceron D, Lewden C, Morlat P, Bevilacqua S, Jouglu E, Bonnet F, Heripret L, Costagliola D, May T, Chene G; The Mortality 2000 study group. Liver disease as a major cause of death among HIV infected patients: role of hepatitis C and B viruses and alcohol. J Hepatol. 2005; Jun; 42(6): 799-805.

Ampio studio che ha coinvolto 185 tra i principali dipartimenti di malattie infettive degli ospedali francesi, in cui vengono indagate le cause di morte in 822 pazienti con infezione da HIV/AIDS e deceduti nel 2000. Lo studio focalizza l'attenzione sulle cause di morte per malattia epatica da virus dell'epatite B (HBV) e C (HCV). Il 29% dei pazienti HIV+ aveva una infezione da HCV, l'8% da HBV e il 4% da entrambi i virus epatitici. Le più frequenti cause di morte nei pazienti HIV+ con infezione da HCV sono state l'insufficienza epatica terminale (31% dei casi) seguita dall'AIDS (29% dei casi). In quelli HIV+ con infezione da HBV, la principale causa di morte era l'AIDS (38% dei casi) mentre la cirrosi epatica era responsabile del 22% dei decessi. Nei pazienti HIV+ e con infezione HCV/ HBV, la principale causa di morte rimaneva l'insufficienza epatica terminale (44% dei casi), attestando nei pazienti HIV+ un ruolo importante della coinfezione con HCV, per quanto

concerne la gravità del quadro clinico dei pazienti. Il carcinoma primitivo del fegato era presente nel 15% dei pazienti deceduti per cause epatiche, ma era più frequentemente associato all'infezione da HBV. Gli Autori concludono che anche se la cirrosi e l'insufficienza epatica sono la principale causa di decesso nei pazienti HIV+ con infezione da HCV, il numero di decessi dovuti a questa causa sta aumentando anche nei pazienti con infezione da HBV, in relazione alla sovrapposizione del carcinoma primitivo del fegato.

Mangia A, Santoro R, Minerva N, Ricci GL, Carretta V, Persico M, Vinelli F, Scotto G, Bacca D, Annesse M, Romano M, Zechini F, Sogari F, Spirito F, Andriulli A. Peginterferon alfa-2b and ribavirin for 12 vs. 24 weeks in HCV genotype 2 or 3. N Engl J Med. 2005; Jun 23; 352(25): 2609-17.

Gli Autori partono dall'ipotesi che nei pazienti con epatite cronica da virus C (HCV), dovuta a genotipi favorevoli (2 e 3), e che non sono viremici alla quarta settimana di terapia, un trattamento di sole 12 settimane sia efficace tanto quanto quello standard di 24 settimane, con il vantaggio di una riduzione dei problemi connessi agli effetti collaterali dei farmaci. L'ipotesi viene verificata mediante uno studio su 283 pazienti in trattamento con regime standard di 24 settimane a base di peginterferon alfa-2b e ribavirina, tra i quali 213 sono stati assegnati ad un braccio "variabile" in cui la durata della terapia veniva fermata a 12 settimane o allungata a 24, secondo la presenza/assenza di viremia alla quarta settimana. Gli altri 70 pazienti rimanevano assegnati al braccio "standard" di 24 settimane di terapia, indipendentemente dallo stato della viremia alla quarta settimana. A seconda della durata del trattamento, la risposta completa è stata del 76% nel gruppo "standard" e del 77% in quello a 12 settimane, senza, quindi, differenze statisticamente significative. In rapporto al genotipo virale, la percentuale di risposta completa è stata dell'80% nei pazienti con infezione da genotipo 2 e del 66% in quelli con infezione da genotipo 3. Ciò che risultava significativo tra i due gruppi era il numero minore di "drop out" da effetti collaterali nel gruppo trattato per sole 12 settimane rispetto al gruppo "standard", mentre la percentuale di ricadute da HCV è stata più bassa nel gruppo "standard" (3.6% dei pazienti), rispetto al 9% dell'altro. Gli Autori, pertanto, concludono che l'efficacia di un trattamento combinato di sole 12 settimane nei pazienti con infezione da HCV, determinata da genotipi 2 e 3 e con viremia assente alla quarta settimana, è simile a quella del trattamento standard di 24 settimane.

Gerard C, Delwaide J, Vaira D, Bastens B, Servais B, Wain E, Bataille C, Daenen G, Belaiche J. Evolution over a 10 year period of the epidemiological profile of 1,726 newly diagnosed HCV patients in Belgium. J Med Virol. 2005; Jun 23; 76(4): 503-10.

Ampio studio epidemiologico di natura retrospettiva sull'infezione da virus dell'epatite C (HCV) in Belgio, effettuato in 1726 pazienti portatori di HCV, nel periodo 1992-2002. Gli Autori verificano un importante aumento, pari al 3% annuo, delle nuove diagnosi di infezione da HCV in soggetti al di sotto dei 50 anni, attribuibile verosimilmente all'aumento delle infezioni da HCV contratte a seguito dell'uso di stupefacenti per via endovenosa (2,5% di aumento annuale). In diminuzione sono i casi di infezione attribuibili a rischio trasfusionale prima del 1990 (diminuzione del

## BIBLIOGRAFIA

selezionata

2,7%). La presenza del genotipo 1b tende a contrarsi (diminuzione annuale del 2,3%), mentre aumentano le infezioni dovute al genotipo 1a (0,7%) e 4 (1,1%).

Changing of hepatitis C virus genotype patterns in France at the beginning of the third millenium: The GEMHEP GenoCII Study. Payan C, Roudot-Thoraval F, Marcellin P, Bled N, Duverlie G, Fouchard-Hubert I, Trimoulet P, Couzigou P, Cointe D, Chaput C, Henquell C, Abergel A, Pawlowsky JM, Hezode C, Coude M, Blanchi A, Alain S, Loustaud-Ratti V, Chevallier P, Trepo C, Gerolami V, Portal I, Halfon P, Bourliere M, Bogard M, Plouvier E, Laffont C, Agius G, Silvain C, Brodard V, Thieffin G, Buffet-Janvresse C, Riachi G, Grattard F, Bourlet T, Stoll-Keller F, Doffoel M, Izopet J, Barange K, Martinot-Peignoux M, Branger M, Rosenberg A, Sogni P, Chaix ML, Pol S, Thibault V, Opolon P, Charrois A, Serfaty L, Fouqueray B, Grange JD, Lefrere JJ, Lunel-Fabiani F. *J Viral Hepat* 2005; Jul; 12(4): 405-13.

Studio epidemiologico osservazionale effettuato su 1769 pazienti con epatite cronica da virus C (HCV) e afferenti a 26 centri di riferimento francesi, per valutare come si sono modificate le caratteristiche dell'infezione da HCV in Francia nel periodo 2000-2001. Lo studio del genotipo virale (effettuato nel 63% dei centri mediante line probe assay LIPA, nel 25% mediante sequenziamento e nel 12% con Polymerase Chain Reaction primer-specifica) ha evidenziato la seguente distribuzione dei genotipi di HCV: 18% genotipo 1a, 27% 1b, 9% 2, 21% 3, 3% 4, 11% 5, mentre le infezioni sostenute da più di un genotipo erano l'1%. Gli Autori concludono che in Francia il pattern dell'infezione da HCV sembra virare verso una maggiore diffusione dei genotipi 1a, 4 e 5 mentre l'abuso di stupefacenti per via endovenosa rimane la principale fonte di diffusione del virus.

Kumagai J, Komiya Y, Tanaka J, Katayama K, Tatsukawa Y, Yorioka N, Miyakawa Y, Yoshizawa H. Hepatitis C virus infection in 2,744 hemodialysis patients followed regularly at nine centers in Hiroshima during November 1999 through February 2003. *J Med Virol*. 2005 Jun 23; 76(4): 498-502.

Studio epidemiologico di tipo prospettico sul rischio nosocomiale di acquisire l'infezione da virus dell'epatite C (HCV) in 2744 pazienti sottoposti ad emodialisi, in nove unità emodialitiche giapponesi, nel periodo 1999-2003. Gli Autori usano come test per identificare la presenza del virus, la ricerca di HCV RNA, a cui i pazienti vengono sottoposti periodicamente e osservano, negli anni di studio, una diminuzione significativa della prevalenza dell'infezione, passata dal 15,7 al 13%, a fronte di un tasso di incidenza annuale dello 0,33%. Gli Autori sostengono la necessità di uno stretto monitoraggio dell'infezione mediante test molecolari, in modo da rivelare la presenza del virus precocemente (31% delle loro infezioni è stato infatti diagnosticato nella fase "finestra" dove l'unico marcatore risultava HCV RNA) e il ruolo fondamentale svolto dall'osservanza delle norme di precauzioni universali e delle procedure di disinfezione e sterilizzazione per contenere e ridurre il rischio di trasmissione nosocomiale di HCV.

Huang WS, Lu SN, Wang JH, Lee CM, Tung HD, Chen TM, ChangChien CS Prediction of viremia for cases of hepatitis C virus (HCV) infection using a third-generation anti-HCV enzyme-immunoassay test.

Hepatogastroenterology. 2005 May-Jun; 52(63): 893-6. Gli Autori analizzano 3 anni di risultati di laboratorio positivi al test per gli anticorpi contro il virus dell'epatite C (HCV), ottenuti con il sistema AxSYM HCV 3.0 (Abbott, IL, USA), in termini di valutazione semiquantitativa come rapporto tra valore del campione e quello di cut-off (S/CO), per individuare la potenza del test anticorpale nell'identificare l'infezione da HCV. Viene usato come marcatore di riferimento per la presenza dell'infezione la ricerca di HCV RNA mediante Polymerase Chain Reaction. Gli Autori individuano nel S/CO di 40 la condizione migliore in termini di sensibilità e specificità (81%) verso la presenza di HCV RNA. Valori superiori a 40 sono associati a viremia nel 100% dei casi mentre tutti i campioni con un S/CO <10 sono risultati HCV RNA negativi indipendentemente dal valore delle transaminasi. Per i valori compresi tra 10 e 40 solo un follow-up mediante test molecolari può dirimere lo sviluppo dell'infezione.

Planas JM, Gonzalez ER, Grana EB, Botella AG, Peinado CB, Poza JL, Garrido MJ, Turrion VS, Martinez VC. Peginterferon and ribavirin in patients with HCV cirrhosis after liver transplantation. *Transplant Proc*. 2005 Jun; 37(5): 2207-8.

Gli Autori valutano l'efficacia della terapia antivirale nella reinfezione da virus dell'epatite C (HCV) dopo trapianto di fegato per malattia HCV-correlata. Lo studio è stato condotto su 30 pazienti con reinfezione da HCV a circa 43 mesi dopo il trapianto di fegato. Metà dei pazienti aveva sviluppato una cirrosi sul graft. Lo schema di terapia antivirale prevedeva peginterferon alpha 2b (1.5 ug/kg/settimana) e ribavirina (10.6 mg/kg/d) per 48 (genotipo 1, 4) o 24 settimane (genotipo 2 e 3). Quattordici pazienti (46,7%) hanno avuto una risposta completa indipendentemente dalla presenza/assenza di cirrosi, ma il peso degli effetti collaterali è stato importante con la conseguente necessità di ridurre le dosi in 12 pazienti e di sospendere la terapia in altri 11. Nessun paziente ha sviluppato rigetto, ma quelli con cirrosi hanno avuto più complicità infettive di quelli senza cirrosi. Gli Autori concludono che il controllo della reinfezione da HCV dopo trapianto mediante l'uso della terapia combinata è efficace anche in presenza di cirrosi del graft, ma esiste un elevato numero di eventi avversi e di complicanze infettive.

Blackard JT, Smeaton L, Hiasa Y, Horiike N, Onji M, Jamieson DJ, Rodriguez I, Mayer KH, Chung RT. Detection of Hepatitis C Virus (HCV) in Serum and Peripheral-Blood Mononuclear Cells from HCV-Monoinfected and HIV/HCV-Coinfected Persons. *J Infect Dis*. 2005 Jul 15; 192(2): 258-65.

Gli Autori partono dall'ipotesi che il virus dell'epatite C (HCV) possa replicarsi nelle cellule mononucleate del sangue (PBMC) e che nei pazienti con infezione da virus dell'immunodeficienza umana (HIV) possa esistere una sinergia tra i due virus a questo livello. Per valutare l'interazione tra HIV e HCV, gli Autori studiano la presenza dello strand positivo di HCV, come marcatore di replicazione virale, nei PBMC e nel siero di 48 donne con infezione da HCV, di cui 20 HIV+, mediante real-time Polymerase Chain Reaction strand-specifica. Lo strand positivo di HCV era presente nel 90% dei sieri di tutte le pazienti. Lo stesso strand era positivo nel 32% dei PBMC da donne con sola infezione da HCV e in misura significativamente maggiore (55%) in quelle HIV+ (rilevamento effettuato prima dell'inizio della

terapia anti-retrovirale). Nonostante la terapia anti-HIV, le pazienti continuavano a mostrare alti livelli di strand positivo di HCV nei PBMC. Le viremie da HIV e HCV non erano correlate, così come i livelli di HCV RNA sia nel siero sia nei PBMC. Questi dati attestano che la replicazione di HCV avviene anche nei PBMC, dove il virus potrebbe essere poco sensibile alle terapie anti-HCV. I PBMC sarebbero pertanto importanti reservoirs del virus, spiegando così la scarsa risposta alla terapia contro HCV tipica dei pazienti HIV+, rispetto a quelli con sola infezione da HCV.

Lok AS, Ghany MG, Goodman ZD, Wright EC, Everson GT, Sterling RK, Everhart JE, Lindsay KL, Bonkovsky HL, Di Bisceglie AM, Lee WM, Morgan TR, Dienstag JL, Morishima C. Predicting cirrhosis in patients with hepatitis C based on standard laboratory tests: Results of the HALT-C cohort. *Hepatology*. 2005, 28 giugno, disponibile on-line:

<http://www3.interscience.wiley.com/cgi-bin/abstract/110550298/ABSTRACT>.

Presentazione di un modello per predire lo sviluppo di cirrosi in pazienti con epatite cronica da virus C (HCV) basato su test di laboratorio e sviluppato attraverso lo studio di 1141 pazienti con epatite cronica da HCV, di cui 429 con cirrosi, facenti parte di un ampio studio clinico randomizzato a carattere prospettico, che coinvolge 10 centri americani. I pazienti sono stati suddivisi in due gruppi a seconda della presenza o assenza di cirrosi (Ishak score 5-6 e 3-4, rispettivamente) e tutte le biopsie sono state riviste da un pannel di esperti patologi. Parametri demografici, clinici, di laboratorio e radiologici sono stati valutati alla luce dei diversi quadri istologici e combinati in un modello di analisi univariata. Per quelli risultati significativi, è stato creato un modello di regressione logistica per predire lo sviluppo di cirrosi nei pazienti con epatite cronica da HCV, valutando diversi livelli di cut-off per ogni parametro e combinandoli variamente in modo da trovare la condizione ottimale. Lo studio ha identificato come variabili significativamente associate al rischio di sviluppare cirrosi, il numero di piastrine (significativamente più basso nel gruppo con cirrosi), il rapporto ALT/AST (significativamente più alto nel gruppo con cirrosi) e valori di INR >1. Gli Autori elaborano un modello che combina questi tre parametri e ne definiscono il relativo livello di predittività per la cirrosi, concludendo che questo modello, basato su semplici indici di laboratorio, è in grado di predire con un elevato livello di accuratezza l'evoluzione in cirrosi e quindi, di avviare alla necessità di effettuate biopsie epatiche in almeno il 50% di pazienti con epatite da HCV.

Kasirga E, Sanlidag T, Akcali S, Keskin S, Aktas E, Karakoc Z, Helvacı M, Sozen G, Kuzu M. Clinical significance of TT virus infection in children with chronic hepatitis B. *Pediatr Int*. 2005 Jun; 47(3): 300-4.

Gli Autori cercano di chiarire il ruolo del virus TT (TTV) e i rapporti con il virus dell'epatite B (HBV), attraverso lo studio della presenza di TTV nel siero e nella saliva di 29 bambini con epatite cronica da HBV e un gruppo di controllo costituito da 25 bambini sani. Il 52% dei bambini con epatite cronica da HBV presentava TTV nel siero (nel 32% di essi TTV era nella saliva), similmente a quanto succedeva nei bambini sani in cui 58% di essi era positivo nel siero per TTV (il 41% era positivo anche nella saliva). Il danno epatico, in termini di necrosi periportale e flogosi, era significativamente più marcato nei bambini viremici per

entrambi HBV e TTV che in quelli senza viremia da TTV. Da questa analisi, gli Autori concludono che la frequenza dell'infezione da TTV è alta nella loro popolazione infantile e che nel caso di epatite cronica da HBV, la presenza di TTV possa contribuire alla progressione della malattia epatica.

Le Gal F, Gordien E, Affolabi D, Hanslik T, Alloui C, Deny P, Gault E. Quantification of hepatitis delta virus RNA in serum by consensus real-time PCR indicates different patterns of virological response to interferon therapy in chronically infected patients. *J Clin Microbiol*. 2005 May; 43(5): 2363-9.

Gli Autori valutano l'impiego della determinazione quantitativa dell'RNA del virus Delta (HDV) per definire la risposta alla terapia con interferone, in pazienti con epatite cronica da virus B (HBV) e HDV. La ricerca di HDV RNA viene eseguita su siero mediante reverse-transcription real-time Polymerase Chain Reaction (sensibilità di 100 copie/ml). Gli Autori individuano differenti profili viremici in rapporto alla risposta alla terapia e suggeriscono che la ricerca e quantizzazione di HDV RNA consenta di ottimizzare la gestione del paziente con coinfezione HBV/HDV, nonché di acquisire informazioni sulla storia naturale e l'evoluzione dell'infezione da HDV.

Romano L, Velati C, Baruffi L, Fomiatti L, Colucci G, Zanetti AR; Italian Group for the Study of Transfusion Transmissible Diseases. Multicenter evaluation of a semiautomated, standardized assay for detection of hepatitis B virus DNA in blood donations. *J Clin Microbiol*. 2005 Jun; 43(6): 2991-3.

Il rischio residuo di trasmissione del virus dell'epatite B (HBV) mediante emoderivati derivante dalla possibilità del "periodo finestra" nei donatori, può ulteriormente essere ridotto dalla ricerca del DNA di HBV. Lo studio valuta l'applicazione del test semi-automatizzato COBAS Ampliscreen HBV su minipool di plasma (24 unità), attraverso l'analisi della performance su pannelli di riferimento NAP Acrometrix, pannelli di sieroconversione e plasma da 9547 donatori abituali afferenti a 5 diverse Banche del Sangue. Il test consente un'unica estrazione da cui si procede all'allestimento di tre diverse amplificazioni, per HIV, HCV e HBV. Il limite di sensibilità per HBV è stato fissato a 20 UI/ml (specificità del 100%). La precocità di comparsa di HBV DNA rispetto ad HBsAg variava da 4 a 18 giorni prima (in media 10 giorni) su test individuale e da 0-11 su minipool (volume totale 1 ml, in media 3.7 giorni).

Momosaki S, Umemura T, Scudamore CH, Kojiro M, Alter HJ, Tabor E. SEN virus infection in patients with hepatocellular carcinoma. *J Viral Hepat*. 2005 Jul; 12(4): 435-8.

Circa il 10-20% dei carcinomi primitivi del fegato (HCC) si manifestano in pazienti con epatite cronica la cui eziologia non è definita. Gli Autori studiano la prevalenza del virus SEN (transfusion-transmitted virus, SEN-V) in 50 pazienti con HCC, con particolare enfasi per quelli il cui danno epatico non era correlato ai virus dell'epatite B e C. La ricerca del DNA di SEN-V è stata eseguita sia su plasma sia su tessuto tumorale e controparte non tumorale mediante Polymerase Chain Reaction. Diciotto dei 50 (36%) pazienti con HCC presentavano SEN-V DNA nel siero e a livello epatico. Sequenze di SEN-V DNA si trovavano associate più frequentemente alla presenza sia di HBV che di HCV rispetto ai casi di HCC ad eziologia non virale. Ventitre

pazienti HBsAg negativi avevano una infezione occulta da HBV e tra questi, circa un terzo era positivo a livello epatico anche per SEN-V. Gli Autori concludono che, nonostante il frequente rilevamento di sequenze di SEN-V, allo stato attuale non sembra possibile attribuire a questo virus un ruolo causale nei casi di HCC la cui eziologia non è correlata all'infezione da virus HBV e HCV.

## EVIDENCE BASED MEDICINE

a cura di GIUSEPPE GIOCOLI

Rapid responses to: Christian Gluud and Lise Lotte Gluud Evidence based diagnostics. *BMJ* 2005; 330: 724-726

<http://bmj.bmjournals.com/cgi/eletters/330/7493/724>

Eric S Kilpatrick. Licensing diagnostic tests may benefit everyone. *BMJ* 2005; 330: 1330

<http://bmj.bmjournals.com/cgi/content/extract/330/7503/1330>

Douglas G Altman for the CONSORT Group. Endorsement of the CONSORT statement by high impact medical journals: survey of instructions for authors. *BMJ* 2005; 330: 1056-1057

<http://bmj.bmjournals.com/cgi/content/full/330/7499/1056>

La rassegna di questo mese è un po' diversa dal solito: riguarda non solo articoli, ma anche i relativi commenti da parte dei lettori. Lo scopo è sottolineare l'attuale linea editoriale di famose riviste straniere, volta a coinvolgere sempre più i lettori e captare le loro reazioni alle novità pubblicate ("...discussions can range beyond the original findings to suggest new avenues of research..."). Sarebbe bello che ciò avvenisse anche da noi e forse varrebbe la pena fare un tentativo; dopo tutto, condensare in una breve lettera le proprie vedute è un buon esercizio di concretezza ...

Qualche lettore si ricorderà dell'articolo di Gluud & Gluud recensito nel n.1/2005 di *Microbiologia Medica*; pubblicato nel *BMJ* del 26 marzo 2005, è stato seguito da un dibattito protrattosi sulle pagine della rivista fino all'inizio di giugno. L'iter per valutare l'accuratezza procede attraverso diverse fasi: dalle prestazioni analitiche a quelle diagnostiche, in condizioni che si avvicinano progressivamente a quelle dell'utilizzo del test nella pratica clinica.

Lo schema è simile per le differenti branche della diagnostica, ma non "riproducibile con la carta carbone": le diverse motivazioni addotte dai lettori fanno dire a Gluud & Gluud in un loro commento: "siamo all'inizio di una lunga navigazione nel mare della diagnostica..." ("Setting sail for the sea of diagnostic research").

C'è poi chi si spinge più in là e vorrebbe che i test diagnostici venissero approvati da un ente di controllo, allo stesso modo dei farmaci.

È quanto sostenuto da Kilpatrick: si tratta dopo tutto di "interventi sanitari" e, come un farmaco deve attenuare o guarire una malattia senza far danno, così un test diagnostico deve fornire una diagnosi accurata, condizionare un trattamento specifico e risolutivo e portare ad un esito clinico (outcome) benefico per il paziente.

Ma tutto ciò ha una condizione basilare: la metodologia degli studi di accuratezza deve essere standardizzata e le

riviste scientifiche dovrebbero esercitare le giuste pressioni per indirizzare gli autori verso un reporting appropriato.

La rassegna di Altman, professore di statistica medica ad Oxford, rientra in questo tema.

Si tratta di un'inchiesta per verificare come le riviste mediche più importanti consigliano gli autori a rispettare nei loro studi le raccomandazioni CONSORT (linee guida per il reporting dei trial randomizzati e controllati). Risultato penoso: lo fanno il 20% di esse, ed anche in modo poco appropriato.

Ha commentato un lettore (v. *Rapid Responses*): "...il problema sono comunque i revisori: se conoscono le raccomandazioni possono comunque applicarle, ma qualora non se ne curino, poco vale che le raccomandazioni siano menzionate nelle istruzioni per gli autori..."

## GASTROENTERITI VIRALI

a cura di MANUELA PEGORARO

I numeri più recenti di varie riviste specialistiche hanno dedicato parte del loro spazio ad approfondire aspetti diversi delle gastroenteriti sostenute da virus appartenenti alla famiglia *Caliciviridae*: virus nudi, non coltivabili, con capside icosaedrico, RNA monocatenario a polarità positiva caratterizzato da una spiccata eterogeneità di sequenza, compresi in 4 generi: *Norovirus* (suddiviso, a sua volta, in 5 genogruppi principali cui vengono ricondotti vari altri gruppi geneticamente correlati o "clusters") e *Sapovirus*, di interesse umano; *Lagovirus* e *Vesivirus*, di interesse veterinario. Di seguito viene riportata una piccola selezione di quei lavori che riassumono aspetti epidemiologici e molecolari.

- Lopman Ben, Vennema Harry, Kohli Evelyne, et al. Increase in viral gastroenteritis outbreaks in Europe and epidemic spread of new norovirus variant. *The Lancet* 2004; 363: 682-688.

- Lindell Tiveljung A, Grillner L, Svensson L, et al. Molecular epidemiology of norovirus infections in Stockholm, Sweden, during the years 2000 to 2003: association of the GGIIb genetic cluster with infections in children. *Journal of Clinical Microbiology* 2005; 43 (3): 1086-92.

- Marshall JA, Dimitriadis A, Wright PJ. Molecular and epidemiological features of norovirus-associated gastroenteritis outbreaks in Victoria, Australia in 2001. *Journal of Medical Virology* 2005; 75: 321-31.

Il primo lavoro, pur non essendo recente (febbraio 2004), è interessante perché riporta alcuni dati raccolti attraverso l'European Food-borne Viruses Network (rete di sorveglianza delle infezioni gastroenteriche virali, cui partecipano 10 paesi europei, tra cui anche l'Italia) relativi ai focolai epidemici di gastroenteriti sostenute da norovirus, manifestatisi nel periodo gennaio 1995-dicembre 2002. I dati presentati riguardano in particolare tre paesi (Germania, Gran Bretagna e Paesi Bassi) e si riferiscono al marcato incremento dell'incidenza di queste infezioni registrato da questi paesi nel 2002: del 128% rispetto ai dati del '96 per quanto riguarda l'Olanda, del 94% rispetto al '99 per la Germania e del 77% rispetto al '95 per la Gran Bretagna. Gli Autori mettono in relazione questo picco di incidenza

all'emergenza e al rapido diffondersi di una "nuova variante" del ceppo 4, genogruppo II (GG-4).

Il Lavoro svedese, che approfondisce anche aspetti di tipizzazione molecolare, riporta dettagliatamente i dati relativi a tre stagioni (2000-2001, 2001-2002, 2002-2003) durante le quali è stato osservato un progressivo incremento dell'incidenza delle gastroenteriti da norovirus, soprattutto a carico della popolazione adulta: dal 23% di positività del 2000 al 29% del 2003.

Per quanto riguarda la popolazione infantile, invece, il tasso di positività dei campioni fecali analizzati (tramite RT-PCR del gene della polimerasi virale) è sceso dal 18% all'11% nelle prime due stagioni considerate, per poi risalire al 15% nella terza: oltre a sottolineare il ruolo di questi agenti nell'ambito delle gastroenteriti infantili, gli Autori riferiscono anche la prevalenza, nella popolazione pediatrica, di ceppi specifici (GGIIb).

Gli stessi non concordano invece pienamente con quanto riportato nella pubblicazione che riassume i dati dell'European Food-Borne Viruses Network, in quanto l'aumento dei casi da loro osservato è precedente al diffondersi della "nuova variante" GGII-4 descritta da Lopman e segnalata in Svezia solo a partire dall'ottobre 2002, anche se un ceppo appartenente al medesimo cluster (GGII-4) è stato identificato (tramite sequenziamento) nel 54% del totale dei campioni tipizzati.

Nell'emisfero australe la situazione è sovrapponibile: il 51% dei focolai epidemici di gastroenteriti occorsi nel 2001 nello Stato di Victoria, sono stati correlati a norovirus.

Le epidemie coinvolsero strutture sanitarie (ospedali e case di riposo) nel 40% dei casi, nel 27% furono associate invece al consumo comune di cibo contaminato o a particolari attività sociali, come gite o campeggi (13%) e nel 17% coinvolsero asili e scuole materne: tutte le fasce d'età sono perciò suscettibili all'infezione e, secondo gli Autori, la correlazione di particolari ceppi virali a specifiche fasce di età è, in realtà, un riflesso della aggregazione sociale in cui l'epidemia si sviluppa.

I clusters virali responsabili corrisposero ai genogruppi di più frequente riscontro anche nell'emisfero boreale: genogruppo II, cluster I (correlato al virus di Lordsdale e corrispondente al GGII-4 dei lavori precedenti).

Quattro campioni, provenienti da due focolai epidemici distinti, risultarono positivi alla ricerca in microscopia elettronica ma negativi al saggio molecolare: secondo gli Autori, l'eterogeneità genetica caratteristica di questi virus implica il fallimento delle tecniche biomolecolari nel 7% degli eventi epidemici.

- Phan TG, Nguyen TA, Nishimura S, et al. Etiologic agents of acute gastroenteritis among Japanese infants and children: virus diversity and genetic analysis of sapovirus. Archives of Virology 2005

- Hugo Johansson PJ, Bergentoft K, Larsson PA, et al. A nosocomial sapovirus-associated outbreak of gastroenteritis in adults. Scandinavian Journal of Infectious Diseases 2005; 37: 200-4.

Il Lavoro giapponese riporta la distribuzione dei virus enteropatogeni noti in 371 casi di gastroenterite acuta, osservati nell'arco di un anno (luglio 2002-luglio 2003) in pazienti pediatriche residenti in tre grossi centri urbani. Il 60% di questi campioni risultarono positivi, con una netta prevalenza dei rotavirus di gruppo A (42%), seguiti dai

norovirus (circa 30%) e dai rotavirus di gruppo C (8.4%); 17 campioni risultarono positivi per sapovirus (6.7%), un numero ancora inferiore per adenovirus e astrovirus (5.3% e 0.9% rispettivamente).

Analogamente ai norovirus, con i quali condividono l'appartenenza alla stessa famiglia, i sapovirus presentano una notevole eterogeneità genetica e vengono a loro volta distinti in 5 genogruppi in base alla sequenza del gene codificante la proteina capsidica: 13 dei ceppi identificati nello studio appartenevano al genogruppo I, i restanti 4 al genogruppo II (il genogruppo III sembra di esclusivo interesse veterinario).

Sebbene i sapovirus siano responsabili di gastroenteriti in tutte le fasce d'età, i dati sieroepidemiologici di prevalenza anticorpale indicano che l'infezione viene comunemente contratta prima dei 5 anni, ponendo quindi i bambini nei primi anni di vita tra le categorie esposte a maggior rischio: nello studio in questione il 70% dei campioni positivi per sapovirus proveniva da pazienti di età compresa tra due e tre anni.

- A conferma del fatto che i sapovirus, pur essendo considerati responsabili di infezioni in età pediatrica, possono causare gastroenteriti a carattere epidemico anche nell'età adulta, viene segnalato questo Lavoro svedese che riporta di un evento epidemico nosocomiale, che ha coinvolto 23 persone tra pazienti e personale sanitario, verificatosi nel marzo 2004.

La negatività dell'esame batteriologico e dell'RT-PCR per norovirus accompagnata dall'osservazione in microscopia elettronica di particelle virali compatibili con membri della famiglia Caliciviridae, ha indotto all'esecuzione di RT-PCR per sapovirus in 6 dei 9 campioni positivi alla microscopia: tutti sono risultati contenere un'identica sequenza corrispondente a un frammento del gene capsidico correlato al genogruppo IV. Gli Autori, ovviamente, sottolineano la necessità di ampliare anche a questi agenti virali la diagnostica delle gastroenteriti sia sporadiche che epidemiche.

- Medici MC, Martinelli M, Abelli LA, Ruggeri FM, et al. Caratterizzazione molecolare di ceppi di norovirus identificati a Parma nel corso del 2002. Microbiologia Medica 2004; 19 (2): 140.

Si tratta dei dati italiani più recenti, presentati a Padova nel corso del XXXIII Congresso Nazionale AMCLI, elaborati dal gruppo di virologi parmensi in collaborazione con l'Istituto Superiore di Sanità.

Viene riportata una frequenza di isolamento pari al 22% nel periodo gennaio-aprile 2000 e di quasi il 15% nel periodo gennaio-aprile 2002, limitatamente ai pazienti pediatrici.

La caratterizzazione molecolare di 70 ceppi di norovirus rivelati in campioni clinici ha permesso di stabilire la netta prevalenza, anche nell'area di Parma, del genogruppo II (98% dei ceppi tipizzati).

## INFEZIONI MATERNO-FETALI E NEONATALI

a cura di LIDIA RICCI, GIGLIOLA FLAMMINIO

Bouallegue-Godet O, Ben Salem Y, Fabre L, Demartin M, Grimont PA, Mzoughi R, Weill FX. Nosocomial out-

break caused by *Salmonella enterica* serotype Livingstone producing CTX-M-27 extended-spectrum beta-lactamase in a neonatal unit in Sousse, Tunisia. *J Clin Microbiol* 2005 Mar; 43(3): 1037-44.

Gli autori descrivono un cluster da *Salmonella livingstone* produttore di beta-lattamasi a spettro esteso (ESBL) provocato da infezioni delle ferite in neonati ricoverati nel reparto di ostetricia di un ospedale Tunisino. Sono stati isolati 16 ceppi da altrettanti neonati e tutti mostravano, in vitro, resistenza alle cefalosporine, aminoglicosidi e trimethoprim-sulfametossazolo. Gli isolati sono stati caratterizzati utilizzando la pulsed-field con gli enzimi di restrizione XbaI e SpeI; inoltre il confronto del loro pattern genetico è stato effettuato con genotipizzazione utilizzando l'enzima PstI. Tutti gli isolati appartenevano allo stesso clone. L'utilizzo della Polymerasi Chain Reaction e della focalizzazione isoelettrica ha evidenziato che l'ESBL era conseguenza dell'attività dell'enzima espresso dal gene CTX-M-27. Il gene codificante per la resistenza al Trimethoprim era *dfrA21*. L'arresto dell'episodio epidemico è stato possibile tramite il trattamento di tutti i neonati, eccetto due, con colistina e con l'utilizzo di appropriate misure igieniche quali isolamento del paziente, lavaggio delle mani ed accurata disinfezione delle ferite.

Sawardekar KP. Shigellosis caused by *Shigella boydii* in a preterm neonate, masquerading as necrotizing enterocolitis. *Pediatr Infect Dis J*. 2005 Feb; 24(2): 184-5.

Gli autori descrivono un caso di Shigellosi riscontrato in un neonato ricoverato presso l'ospedale di riferimento neonatale regionale dell'Al-Dakhliya nell'Oman. Il bambino, nato da primipara di 20 anni alla 35-ima settimana di gestazione, pesava 1575 gr. e presentava distress respiratorio ed ipotensione. Dopo 20 giorni l'aspetto clinico si complicava per la presenza di febbre oscillante, un addome acuto e stato di apnea. L'esame delle feci consentiva l'isolamento di *Shigella boydii*, erano invece negative le colture del liquor, sangue ed urine. Un trattamento di sette giorni consentiva la soluzione del caso. La coprocultura della madre era negativa ma dall'indagine anamnesticca eseguita su tutta la famiglia emergeva un episodio diarroico, una settimana prima del parto per la madre e disturbi analoghi, un mese prima, in altri familiari.

Larson EL, Cimiotti J, Haas J, Parides M, Nesin M, Della-Latta. Effect of antiseptic handwashing vs alcohol sanitizer on health care-associated infections in neonatal intensive care units. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 2005 Apr; 159(4): 377-83.

Nonostante i Centers for Disease Control raccomandino l'uso di disinfettanti per il lavaggio delle mani onde prevenire la trasmissione delle infezioni, non ci sono molte evidenze nella letteratura a supportare questa scelta. Per tale ragione, gli autori hanno eseguito uno studio di comparazione tra l'uso di disinfettanti ed il semplice lavaggio delle mani per stabilire quale metodica fosse migliore onde prevenire le infezioni. Sono stati inclusi nello studio e sottoposti a controllo 2932 neonati e 119 infermieri e dai risultati è emerso che i due regimi di igiene delle mani sono equivalenti. L'Odds Ratio (OR) per l'uso dei disinfettanti ed il lavaggio delle mani è stata calcolata per diverse infezioni e questi sono i valori riscontrati:

OR = 1,61 per le batteriemie

OR = 1,78 per le polmoniti

OR = 1,26 per le infezioni cutanee e dei tessuti

OR = 1,26 per le infezioni del sistema nervoso centrale.

Apgar BS, Greenberg G, Yen G. Prevention of group B streptococcal disease in the newborn. *Am Fam Physician*. 2005 Mar 1; 71(5): 903-10. Review

I risultati di questo studio indicano che l'applicazione della profilassi intraparto ed il trattamento antibiotico del neonato a rischio può ridurre l'incidenza di sepsi da *Streptococcus beta emolitico* di gruppo B (SGB). Tale evidenza è emersa dall'applicazione di uno screening per individuare i soggetti portatori con coltura retto-vaginale alla 35-37ima settimana di gestazione. Inoltre è stata eseguita profilassi intraparto in tutti i soggetti che presentavano:

a. batteriuria da SGB

b. precedenti parti di neonati infetti da SGB

c. mancanza di controllo per SGB attraverso lo screening

La terapia al parto è stata eseguita prevalentemente con penicillina o con cefazolina nei soggetti allergici a basso rischio di anafilassi e con clindamicina ed eritromicina in quelli ad alto rischio. La vancomicina è stata utilizzata solo in caso di resistenza in vitro per clindamicina ed eritromicina, quando non era noto il dato di sensibilità.

Ovalle SA, Gomez MR, Martinez T MA, Kakarieka W E, Fuentes GA, Aspillaga MC, Ferrand MP, Ramirez.

Outcome of microbial invasion of amniotic cavity in the preterm premature rupture of Membranes. *Rev Med. Chil* 2005 Jan; 133(1): 51-61. Epub 2005 Mar 10.

Da questo studio emerge che la presenza nel liquido amniotico di *S. agalactiae*, *F. nucleatum*, ed *H. influenzae* è correlato con un alta frequenza di patologie, sia materne che neonatali, e decessi neonatali. È stata eseguita un'indagine sulle gravide con rottura prematura delle membrane (PROM) nel periodo di gestazione compreso fra la 24-34-ima settimana. Su tutte è stata eseguita coltura del liquido amniotico prelevato tramite amniocentesi trans-addominale e del fluido prelevato dal basso tratto genitale. In base al risultato sono stati individuati quattro gruppi di soggetti:

Gruppo 1 (11 gravide): riscontro di *S. agalactiae*, *F. nucleatum* e *H. influenzae*

Gruppo 2 (30 gravide): presenza di uno o due batteri vari, isolati o in flora mista

Gruppo 3 (19 gravide): positività per *U. urealyticum*

Gruppo 4 (36 gravide): colture negative

Dall'osservazione di questi gruppi si riscontrava che il parto entro 18 ore dall'ingresso in ospedale era più frequente nei soggetti del gruppo 1 e sia le madri che i neonati presentavano più frequentemente infezioni (36% dei casi) ed erano più frequenti i decessi neonatali (46% dei casi). Si riscontrava inoltre una maggiore frequenza di amniositi e funicoliti nel gruppo 3 rispetto al gruppo 4 costituito da soggetti con negatività della coltura.

Hensler ME, Liu GY, Sobczak S, Benirschke K, Nizet V, Heldt GP. Virulence role of group B *Streptococcus beta-hemolysin/cytolysin* in a neonatal rabbit model of early-onset pulmonary infection. *J Infect Dis*. 2005 Apr 15; 191(8): 1287-91. Epub 2005 Mar 10.

Questa sperimentazione rappresenta il primo esempio di studio eseguito su coniglio allo scopo di analizzare il ruolo patogeno dei ceppi di *Streptococcus beta emolitico* di gruppo B (SGB) produttori di beta-emolisina/citolisina (beta h/c) nelle infezioni polmonari. I conigli sono stati infettati per via tracheale con ceppi di SGB Wild-type e ceppi beta h/c e sottoposti a continua osservazione; da questa emergeva che in quelli infettati con ceppi WT (Wild-type) si sviluppa-

va una polmonite focale dopo 18 ore dall'infezione, accompagnata da un'invasione tissutale molto diffusa che non si riscontrava invece nei soggetti infettati con ceppi beta h/c. La mortalità nei due gruppi era rispettivamente del 40% e dello 0%. Complicanze e necessità di ventilazione forzata si osservavano solo nel gruppo Wt e non nel gruppo dei conigli infettati con ceppi beta h/c.

Lancet. 2005 Mar 26; 365(9465): 1175-88. Hospital-acquired neonatal infections in developing countries. Negli ospedali di paesi economicamente svantaggiati e conseguentemente meno sviluppati in campo sanitario, sono carenti le pratiche di controllo delle infezioni, sia durante il parto, sia dopo la nascita del bambino. Gli autori sottolineano che il rischio d'infezioni è 3-20 volte più elevato che nei paesi industrializzati. Le infezioni si verificano prevalentemente dopo il parto e le specie batteriche più frequentemente riscontrate sono: *Klebsiella pneumoniae*, *E.coli*, *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp., e *Staphylococcus aureus*. Circa il 70% dei casi non sarebbe coperto da un trattamento empirico con ampicillina e gentamicina ed inoltre tutti i seguenti fattori: i costi, la mortalità, la morbilità, ecc. limiterebbero il miglioramento della situazione. Tuttavia l'utilizzo di semplici procedure, di efficacia dimostrata, potrebbe almeno in parte contribuire a diminuire il tasso di morbilità e mortalità.

Huang YC, Su LH, Wu TL, Lin TY. Molecular surveillance of clinical methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates in neonatal intensive care units. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2005 Feb; 26(2): 157-60.

*Stafilococco aureo* meticillino resistente (MRSA) è un importante patogeno nosocomiale nelle unità di terapia intensiva neonatale (UTI) e gli autori dello studio hanno caratterizzato 122 isolati di MRSA provenienti da 104 neonati infetti, ricoverati nel loro ospedale in terapia intensiva nel periodo di tempo compreso fra il 1998-2000. Gli isolamenti erano stati ottenuti da coltura di sangue, pus, espettorato, liquidi di varie sedi e da cateteri. Per 15 neonati gli isolamenti erano multipli, e provenienti da varie sedi. La caratterizzazione di MRSA è stata eseguita con Pulsed-field ed enzima di restrizione *SmaI*, ottenendo i seguenti risultati:

1. gli isolati del 1998 appartenevano a due genotipi
2. nel 1999 altri due genotipi caratterizzavano gli isolati
3. gli isolati dell'anno 2000 appartenevano a quattro genotipi
4. due neonati con più isolamenti mostravano due genotipi
5. tre di cinque neonati con infezioni ricorrenti avevano un genotipo diverso nei diversi episodi.

Ryo E, Ikeya M, Sugimoto M. Clinical study of the effectiveness of imipenem/cilastatin sodium as the antibiotics of first choice in the expectant management of patients with preterm premature rupture of membranes. *J Infect Chemother*. 2005 Feb; 11(1): 32-6.

Tra il 1997 ed il 1999 gli autori hanno eseguito uno studio per valutare i risultati ottenuti dall'utilizzo di Imipenem/Cilastatina + Betametazone in gravide, ricoverate per rottura prematura delle membrane (PROM) nel periodo compreso fra la 24 - 31-ima settimana di gestazione. I dati ottenuti sono stati confrontati con quelli del gruppo di controllo, costituito da 40 gravide che non avevano subito lo stesso regime terapeutico. In tutti i soggetti del gruppo di studio erano eseguite colture da materiale aspirato dal canale cervicale e su tutti gli isolati batterici si

eseguiva l'antibiogramma per valutare la sensibilità farmacologica. Le colture erano negative in 33 soggetti. I batteri isolati erano: *Staphylococcus* spp. in 43 casi, *Enterococcus* spp. in 13, *Streptococcus agalactiae* in 17 soggetti, *E. coli* in 7, *Corynebacterium* spp. in 10 e *Staphylococcus aureus* in 8. In tre gravide fu riscontrata anche presenza di *Chlamydia trachomatis*. Tutti mostravano sensibilità in vitro ad Imipenem/cilostatina. Nel gruppo di studio il parto si verificava in genere dopo 11 giorni, in quello di controllo dopo 6. Non si registrò nessun decesso nel primo gruppo monitorato per un anno di tempo ed invece nel gruppo di controllo si registrarono cinque decessi. Questi risultati sembrano indicare che il management farmacologico sperimentato nello studio possa essere utilmente impiegato in tutti i casi di PROM.

Katumba-Lunyanya J, Joss V, Latham P, Abbatuan C. Pulmonary tuberculosis and extreme prematurity. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2005 Mar; 90(2): F178-9.

Il caso descritto è riferito ad una donna sud-africana, gravida, che alla 23-ima settimana di gestazione è stata riscontrata HIV positiva con alta carica virale. All'inizio della 24-ima settimana la presenza di febbre senza alcun sintomo induce ad eseguire test virali e batteriologici. Non riscontrando alcuna positività nei test si decide di somministrare una terapia antivirale ed antibatterica a largo spettro. Alla 25-ima settimana nasce un bambino prematuro apparentemente in buone condizioni e del peso di 875 gr., tuttavia dall'indagine con ultrasuoni emerge la presenza di emorragie intraventricolari importanti e piccoli infarti venosi emorragici. Sottoposto a terapia antiretrovirale con aggiunta di antibiotici (amoxicillina e gentamicina) il neonato presenta insufficienza respiratoria che richiede ventilazione forzata. Sono presenti, inoltre, lesioni cutanee dalla cui coltura si isola *Aspergillus fumigatus* che, successivamente, si riscontra anche nelle urine. Un trattamento con ceftazidime, vancomicina ed anfotericina liposomiale non determina un miglioramento clinico, ma subentra invece uno stato di piresia ed è elevato il valore della proteina C reattiva. Successivamente subentra un idrocefalo emorragico e dalla coltura delle secrezioni del neonato si isola *Mycobacterium tuberculosis*; lo stesso batterio viene isolato dalle urine della madre. Nonostante un trattamento con rifampicina, isoniazide e pirazinamide, il neonato muore. Il caso induce ad alcune considerazioni da cui emerge l'importanza di seguire più attentamente i neonati con tubercolosi, in particolare per l'aspetto farmacologico, gli aspetti etici ed infine le necessarie misure d'igiene pubblica.

Miralles R, Hodge R, McParland PC, Field DJ, Bell SC, Taylor DJ, Grant WD, Kotecha S. Relationship between antenatal inflammation and antenatal infection identified by detection of microbial genes by polymerase chain reaction. *Pediatr Res*. 2005 Apr; 57(4): 570-7. *Epub* 2005 Feb 4.

Le infezioni prenatali giocano un ruolo importante nella patogenesi delle infezioni neonatali e del parto pretermine. I meccanismi sono tuttavia sconosciuti e gli autori di questo studio cercano di stabilire la relazione tra le infezioni neonatali e le infiammazioni intrauterine. Sono stati analizzati 41 neonati pretermine prima della la 33-ima settimana di gestazione. L'indagine è stata condotta per ricercare la presenza di citochine infiammatorie IL6 ed IL8 e le



sequele nucleotidiche della frazione 16 del rRNA ribosomiale (16sr RNA) dei batteri con l'utilizzo della PCR (polimerasi chain reaction). Sono stati esaminati la placenta, le membrane fetali, il sangue cordonale e, quando possibile, il BAL (liquido di lavaggio broncoalveolare) ed il liquido amniotico. Dai risultati di studio è emerso che:

1. Esiste una forte associazione tra presenza di sequenze genetiche 16srRNA ed incremento di IL6, IL8.
2. La positività, sia delle colture che delle citochine, è stata sempre riscontrata nell'aspirato gastrico offrendo una valida alternativa all'indagine del liquido amniotico.
3. La presenza di sequenze genetiche batteriche correlava sempre con manifestazione di corioamniosite e funisite.

Giles M, Garland S, Oats JJ. Management of preterm prelabour rupture of membranes: an audit. How do the results compare with clinical practice guidelines? Aust NZ J Obstet Gynaecol. 2005 Jun; 45(3): 201-6.

Questo studio si basa sull'utilizzo di una scheda di audit clinico per valutare l'associazione di PROM con presenza di infezioni. A tale scopo sono state registrate in queste schede tutte le gravide ricoverate in ospedale per un periodo di tre mesi. È stata valutata l'età, il periodo di gestazione, gli esiti della coltura, il trattamento farmacologico utilizzato e i risultati clinici. Tutto il percorso di management delle pazienti è stato poi confrontato con il percorso indicato nelle linee guida relative a questa patologia.

I risultati ottenuti dall'esame delle schede di Audit indicano:

- a. tutte le 56 gravide avevano ricevuto una dose al momento del ricovero e prevalentemente Eritromicina
- b. dieci soggetti avevano ricevuto una dose di antibiotico per via IV senza una chiara motivazione
- c. Il 64% dei soggetti era stato trattato con steroidi
- d. i 2/3 delle pazienti avevano partorito entro il settimo giorno dal ricovero per PROM e quattro erano i decessi registrati.

Gli autori, commentando i risultati, indicano una buona corrispondenza con le raccomandazioni delle linee guida; l'unico elemento di discordanza si osservava nel rispetto delle raccomandazioni per il controllo delle infezioni da SGB.

## INFEZIONI SESSUALMENTE TRASMISSIBILI

a cura di ANNA CALI

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

Christina Lindan, Meenakshi Mathur, Sameer Kumta, Hermangi Jerajani, Alka Gogate, Julius Schachter, Jeanne Moncada

Utility of Pooled Urine Specimens for Detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in Men Attending Public Sexually Transmitted Infection Clinics in Mumbai, India, by PCR

J CLIN MICROBIOL 2005; 43 (4): 1674-7.

I test di amplificazione degli acidi nucleici (NAATs) per la ricerca di *C. trachomatis* e *N. gonorrhoeae* sono altamente sensibili e specifici, ma i costi elevati possono essere un deterrente per il loro uso nella routine di molti laboratori; utilizzarli con pool di campioni urogenitali può essere un'attraente alternativa, soprattutto nei paesi in via di sviluppo, a risorse limitate. Poiché i NAATs, disponibili com-

mercialmente, non sono stati approvati dalla Food and Drugs Administration per l'uso con campioni saggiati in pool, è necessario che questa procedura, prima del suo uso clinico, venga validata in ogni specifico setting.

Con questo studio gli autori si propongono di valutarne l'applicabilità su campioni di urine primo mitto raccolte da uomini in Mumbai, India, verificando in particolare:

- il reale rapporto costo/beneficio
- l'eventuale aumento del turn-around time (TAT), per le inevitabili ripetizioni dei test
- se campioni raggruppati in pool possono essere usati anche per la ricerca di *N. gonorrhoeae*, poiché la maggior parte degli studi pubblicati riguardano la *C. trachomatis*
- chiarire se, lavorando con un pool di campioni, si incrementa la probabilità di effetti inibitori sui NAATs

Vetrini e tamponi uretrali, e campioni di urine 1° mitto di 690 uomini, afferenti a due cliniche per infezioni sessualmente trasmesse, venivano sottoposti rispettivamente al Gram e alla coltura per *N. gonorrhoeae*, mentre ciascun campione di urine veniva saggiato individualmente e in pool di 5 con Roche Amplicor PCR per *C. trachomatis* e *N. gonorrhoeae*, usando anche un controllo interno per la verifica dell'inibizione.

La prevalenza sui singoli campioni, testati con PCR, risultava di 2,2% (18/690) per *C. trachomatis* e di 5,4% (37/690) per *N. gonorrhoeae*. Comparati con i risultati dei test singoli sulle urine 1° mitto, quelli dei campioni testati in pool presentavano una sensibilità totale del 96.1% (50/52) e una specificità del 96.5% (83/86); il pool mancava due campioni positivi, uno per *C. trachomatis* e uno per *N. gonorrhoeae*, che peraltro, con il controllo interno, non presentavano inibizione; mentre risultavano falsamente positivi tre pool di campioni negativi, quando testati individualmente.

In conclusione gli autori hanno rilevato che:

- lavorando con i pool e adoperando il test combinato per *C. trachomatis* e *N. gonorrhoeae*, il risparmio sul costo dei reattivi è del 50.3%, per le prevalenze da loro riscontrate, beneficio che diventa meno significativo per una prevalenza > al 10%
- questa procedura è applicabile anche per la ricerca di *N. gonorrhoeae*, e nel loro setting è sicuramente più efficace della coltura
- il pool di campioni riduce l'effetto degli inibitori
- il rispetto del TAT dipende dall'organizzazione del lavoro.

Schachter J, Hook EW, Martin DH, Willis D, Fine P, Fuller D, Jordan J, Janda WM, Chernesky M. Confirming Positive Results of Nucleic Acid Amplification Tests (NAATs) for *Chlamydia trachomatis*: All NAATs Are Not Created Equal

J CLIN MICROBIOL 2005; 43 (3): 1372-3.

Dal momento che un sempre maggior numero di screening per infezioni genitali vengono fatti usando test di amplificazione degli acidi nucleici (NAATs), numerosi problemi sono stati sollevati sulla loro specificità, soprattutto in presenza di una popolazione con bassa prevalenza, per le ovvie e gravi implicazioni sociali conseguenti ad una non corretta informazione. I CDC (Centers for Disease Control and Prevention) raccomandano test di conferma dei risultati positivi, quando il valore predittivo positivo del test è <90%, suggerendo diverse strategie tra cui allestire un secondo NAATs, che marchi una differente sequenza di acidi nucleici, sia sul campione originario che su un duplicato.

Gli autori vogliono dimostrare che, se si accetta il principio che test meno sensibili (ad es. la coltura o un'immunoenzimatico) non devono essere usati per confermare i risultati di test più sensibili quali i NAATs, la stessa regola vale quando si usano i NAATs sia come test di screening che di conferma.

In questo studio, le urine primo mitto e i tamponi endocervicali di 1465 donne, le urine primo mitto e i tamponi uretrali di 1322 maschi sono stati saggiati con l'APTIMA CT assay (ACT) e l'APTIMA COMBO 2 assay (AC2) della GenProbe; le urine e un secondo tampone, da ciascun soggetto, erano anche testati con BDProbeTec ETSysstem C. trachomatis assay della Becton Dickinson; i risultati dei 3 NAATs utilizzati, ciascuno con un target differente, erano considerati come test primari di screening e i positivi per ciascun test erano confermati con gli altri due. In questa valutazione l'ACT aveva il più alto numero di risultati positivi (927) il BDProbeTec il più basso (720) e l'AC2 intermedio (850); il 97% dei positivi BD erano confermati dai più sensibili AC2 e ACT; il 98% dei positivi con l'AC2 erano confermati dall'ACT, mentre solo il 90% dei positivi con l'ACT venivano confermati dall'AC2.

Gli autori, dopo alcune considerazioni sulla sensibilità e specificità di questi 3 test, concludono affermando che nella scelta di un test di conferma è necessario utilizzare un NAAT con una soglia di sensibilità almeno equivalente al test usato per lo screening e per la loro esperienza raccomandano di usare l'AC2 come test di screening e l'ACT come test di conferma.

Chalker VJ, Vaughan H, Patel P, Rossouw A, Seyedzadeh H, Gerrard K, James VLA  
External Quality Assessment for Detection of *Chlamydia trachomatis*  
J CLIN MICROBIOL 2005; 43 (3): 1341-7.

Studio retrospettivo che analizza la reale capacità di individuare la *C. trachomatis*, in campioni simulati di tamponi cervicali, da parte dei laboratori clinici partecipanti un programma esterno di qualità (EQA). I pannelli, distribuiti internazionalmente dall'UK NEQAS tra gennaio 2002 e giugno 2004, erano costituiti da 8 campioni negativi e da campioni con un ceppo di isolamento clinico e un ceppo L2 adattato in laboratorio, con diverse quantità di corpi elementari (EB).

Con questo studio è stato possibile comparare i risultati ottenuti con 2 diverse metodiche (EIA e NAATs) e 3 tipi di NAATs (Abbotti LCx, BDProbeTecET e Roche AMPLICOR/COBAS CT/NG) utilizzati dai partecipanti; l'accuratezza dei vari laboratori è risultata molto variabile, con un range dal 32% al 100%, in generale significativamente molto più bassa tra quelli che adoperavano test EIA. Con un campione, contenente circa 833 EB/ml, solo il 2.3% dei laboratori riusciva a riscontrare la *Chlamydia* con i test EIA contro il 66.4% di quelli che adoperavano i NAATs; a più alte concentrazioni forse questo problema potrebbe non verificarsi. Comunque anche i NAATs presentavano alcuni problemi, quali gli effetti degli inibitori nei campioni, la contaminazione, sensibilità, riproducibilità e variazioni nell'efficienza dell'estrazione degli acidi nucleici.

Alle alte concentrazioni la performance dei NAATs risultava eccellente, indipendentemente dal metodo usato e dal ceppo in esame; sorprendentemente si è riscontrato che il BDProbeTecET era meno efficiente del Roche AMPLICOR/COBAS CT/NG nel rilevare il ceppo L2 a basse concentrazioni; invece con il ceppo da isolamento clinico non si

è riscontrata alcuna differenza. La percentuale dei falsi positivi, in questo studio, risultava molto bassa (0.3%→1.5%) e non era associata a nessuna particolare metodica. L'uso di campioni simulati contenenti ceppi diversi e a varie concentrazioni di EB riflette la realtà dei vari tipi di campioni clinici, e gli autori auspicano che i futuri studi dell'EQA includano un range ancora più ampio di tipi di campioni e di sottotipi di *C. trachomatis* per riflettere ancora più accuratamente la realtà operativa dei laboratori clinici.

Jane R. Schwebke and Donald Burgess  
Trichomoniasis

CLIN MICROBIOL REVIEWS 2004; 17 (4): 794-803

Utile e interessante review che discute dell'epidemiologia, delle manifestazioni cliniche, della diagnosi, del trattamento, delle complicanze e della fisio-patologia di questa infezione parassitaria.

Gli autori sottolineano come, pur essendo una malattia sessualmente trasmissibile facilmente diagnosticabile e trattabile, la tricomoniasi non rientra tra le infezioni da notificare e ha finora ricevuto poca attenzione da parte dei programmi di controllo di salute pubblica.

Più recentemente, comunque, la segnalazione dell'aumentata percentuale dei casi, l'associazione con donne con problemi di gravidanza e l'amplificazione della trasmissione di HIV suggeriscono la necessità di incrementare gli sforzi per il suo controllo.

Accanto ad un approfondimento sulla struttura, sul ciclo vitale ed evolutivo, sulla classificazione e le correlazioni tra le specie umane e non umane, il lavoro affronta molti altri aspetti: epidemiologici (un recente report, sulle STD negli Stati Uniti, stima l'incidenza di tricomoniasi in 7.4 milioni di nuovi casi l'anno; a differenza di altre STD la sua distribuzione risulta uniforme tra le donne sessualmente attive di tutti i gruppi di età); clinici (nelle donne sintomatiche i segni e sintomi sono correlati al grado di risposta infiammatoria, influenzata da fattori ancora non ben compresi; ma quasi la metà delle donne infette può risultare asintomatica; la prevalenza e lo spettro di malattia nei maschi sono meno caratterizzati e l'infezione è perlopiù asintomatica, ma viene sottolineata la sua crescente importanza come causa di uretrite non gonococcica); immunologici (pur precisando che le attuali conoscenze derivino solo in parte da osservazioni cliniche ma prevalentemente da esperimenti in vitro e negli animali usando la specie *T. foetus*, gli autori descrivono i meccanismi, i targets e le evidenze dell'immunità acquisita; ma nell'infezione naturale l'immunità è soltanto parzialmente protettiva, in quanto si è visto che il 30% delle pazienti può reinfezzarsi); patogenetici (la recente acquisizione della sequenza genomica del parassita, disponibile sul sito <http://www.tigr.org/tdb/e2k1/tvgl>, fornisce preziose risorse, utili per definire i geni importanti nella patogenesi della tricomoniasi umana).

L'analisi degli strumenti diagnostici, l'approccio terapeutico e articolate considerazioni sulle possibili complicanze concludono questa review, veramente efficace e completa. Per quanto riguarda la diagnosi vengono messi a confronto i metodi tradizionali con i più recenti, se ne valuta l'efficacia e il rapporto costo/beneficio nei vari setting e nei due sessi e si evidenzia come sia stata documentata la sopravvivenza del parassita fino a 24 h in terreno di trasporto "Amies agar-gel". Per quanto riguarda la terapia si ricorda che il metronidazolo è stato finora il solo antibiotico disponibile negli USA; in dose singola da 2 gr risulta efficace nel 97%

## BIBLIOGRAFIA

selezionata

dei casi trattati; vengono riferite le controversie sul suo utilizzo in gravidanza per i possibili rischi di malformazioni fetali e parto pre-termine. L'uso del tinidazolo, un 5-nitroimidazolo chimicamente correlato al metronidazolo, può essere una buona opzione nei casi di resistenza al metronidazolo: ha una emivita plasmatica 2 volte superiore al metronidazolo e una più bassa incidenza di effetti collaterali. Infine le complicanze: a lungo considerata una STD

"minore", con poche complicanze associate, l'infezione da *T. vaginalis* è stata di recente associata con basso peso del neonato, rottura prematura delle membrane e parto pre-termine, anche se studi prospettici in tal senso hanno dato risultati deludenti. Nelle conclusioni viene ricordato che comunque rimangono ancora aperte importanti problematiche riguardo l'immunologia, le complicanze in gravidanza, l'accurata diagnosi e il controllo di questa infezione.

# MYCOBACTERIOLOGICAL

news

**BOLLETTINO A CURA DEL COMITATO DI STUDIO AMCLI PER I MICOBATTERI COSMIC**  
**Prof. Ferruccio Mandler**

**Clinica - batteriologica: aspetti non molecolari - biologia molecolare - terapia - immunologia - sierologia-igiene**

### CLINICA

Piersimoni C, Mandler F, Marchetti D, Molinari GL, Riva R, Tortoli E, Tronci M, Scarparo C. Mycobacterial testing in hospital laboratories: results from a questionnaire survey in Italy-Clinical Microbiology and Infection 2004; 10(11): 1014-6.

Si deve all'iniziativa di Claudio Piersimoni la conoscenza dell'operatività per la ricerca dei Micobatteri come si svolge oggi nei laboratori italiani. Salvo un'altra indirizzata ricerca condotta in Ospedali nazionali forniti della sezione di malattie infettive nessun altro dato nazionale è disponibile. La ricerca è stata condotta dal 1999 al 2001 con un formulario inviato a 596 laboratori ospedalieri italiani e la risposta è stata ottenuta da 335 pari al 59.6%. La microscopia è eseguita da tutti i laboratori, la coltura primaria da 298 (83.9%), l'identificazione del Mt da 133 (37.5%), il test di sensibilità da 83(23.4%) e l'amplificazione da 73(20.6%). Il numero totale di campioni processati è stato nei 12 mesi di 242.381 e 218.991 rispettivamente e considerata la scarsa sensibilità della microscopia un numero > di 23.000 non sono stati posti in coltura.

In totale 179 laboratori (pari al 50.4%) hanno processato un numero <=di campioni clinici/anno, 105 laboratori (pari al 29.6%) hanno processato 500-3000 campioni anno e solo 14 (3.9%) laboratori hanno processato un numero > di 3000 campioni anno. Dei 57 laboratori (16.1%) che non hanno eseguito la coltura 35 pari al 9.9% hanno mandato i campioni a laboratori più grandi.

I laboratori che hanno processato un numero < di 500 campioni/anno sono dislocati nel centro e nel Sud, l'identificazione e le prove di sensibilità sono state eseguite su 10.045 e 5649 campioni rispettivamente. In totale 22.740 amplificazioni dirette per il Mt sono state eseguite nel periodo di 12 mesi e si sono ottenute positività in 2723 pari all'11.9%.

In media i risultati della microscopia per Mt erano disponibili 3 giorni dopo il ricevimento del campione con una media di 2.6, 2.9 e 3.5 giorni se trattasi di Nord, Centro e Sud Italia.

L'American Thoracic Society suggerisce che per mantenere la qualità (proficiency) i laboratori devono processare 10-

15 campioni/settimana ed identificare 20 colture/settimana. Meno del 20% dei laboratori in Italia rientrano in questi criteri,

Miller KD, Barnette R, Light RW. Stability of adenosine deaminase during transportation-Chest 2004; 126(6): 1933-7.

La misura di adenosina deaminasi (ADA) nel liquido pleurico è un test utile per la diagnostica differenziale dei versamenti pleurici. Tuttavia a temperatura ambiente i livelli di enzima declinano con il tempo e lo scopo del lavoro è stato quello di ottimizzare, stabilizzare gli additivi per la conservazione dell'enzima. Studi sistematici sul glicerolo, composto storicamente conosciuto come stabilizzante, hanno dimostrato che una miscela di glicerolo e glicol etilenico a concentrazione del 5% mantiene i livelli pleurici di ADA per almeno 21 giorni sia a temperatura ambiente che a 37°C. Una prova su 32 campioni pleurici ha messo in evidenza che nei campioni contenenti la miscela stabilizzante inviati al laboratorio per via postale a T ambiente i livelli erano quasi identici a quelli aliquotati ed inviati in ghiaccio secco. L'aggiunta di questi agenti diminuisce il costo del test e facilita l'impiego nel caso di spedizioni

Malik R, et al. Infections of the subcutis and skin of dogs caused by rapidly growing mycobacteria. J Small Anim Pract 2004; 45(10): 485-94.

Riferiamo di un lavoro di interesse veterinario ma che può presentare importanti rapporti con la patologia umana. Nove cani affetti da pannicolite dovuta ai Micobatteri a crescita rapida sono stati indagati. Tutti i cani erano in buone condizioni. Antecedenti affezioni dovute a morsi o traumi di passaggio sono state identificate in alcuni animali, uno di questi presentava iperadrenocorticismo. Le infezioni interessavano diverse parti degli animali, la regione cervicotoracica, il dorso, i fianchi erano le sedi più spesso interessate. I cani stavano bene, ad eccezione di uno, con piressia e due con dolori. La citologia ha dimostrato infiammazione piogranulomatosa ma solo in un caso è stato possibile osservare bacilli acidoresistenti nel tampone. L'istologia ha messo in evidenza pannicolite piogranulomatosa e dermatite, bacilli acido resistenti sono stati dimostrati in 4 campioni. La coltura degli aspirati o delle biopsie testuali ha dimostrato bacilli a crescita rapida in tutti i casi inclusi sei con *M. smegmatis* e tre con *M. fortuitum*. La

rezezione, antibiotici iniettati localmente e terapia orale guidata dall'antibiogramma hanno portato a guarigione, sebbene poi vi siano state delle recidive.

Martin-Casabona M, et al (nell'elenco dei collaboratori citiamo: Katila ML (Finlandia), Pfyffer (Svizzera), Portaels F (Olanda), Tortoli E (Italia), Vincent V (Francia) e Spanish Group for non tuberculosis Mycobacteria. Non tuberculous-mycobacteria: patterns of isolation: a multi country retrospective survey. *Int J Tuberc Lung Dis* 2004; 8(10): 1186-93.

Riportiamo il riassunto del lavoro: 'Obiettivo del lavoro è stato quello di raccogliere i dati di vari laboratori sui micobatteri non tubercolari (MNT) eseguiti in vari paesi per stabilire 1) se l'isolamento di MNT è in aumento; 2) se vi è una distribuzione geografica. Lo studio ha interessato 50 laboratori ed è stato eseguito sotto l'egida dell'Unione Internazionale contro la tbc. Risultati: il numero di pazienti è stato di 36099 di 14 paesi. *M. avium* complex, *M. gordonae*, *M. xenopi*, *M. kansasii*, *M. fortuitum* erano le 5 specie più frequentemente isolate. C'è stato un trend di frequenza maggiore per *M. xenopi* e *MAC*. Micobatteri pigmentati predominano in Belgio, la repubblica Ceca e la costa Mediterranea della Spagna. Micobatteri non cromogeni sono risultati predominanti nell'area della costa atlantica del Brasile, Turchia, UK, Finlandia e Danimarca. In conclusione vi è stato un aumento nel numero di MNT isolati da pazienti clinici e l'isolamento delle più frequenti specie varia costantemente nella maggior parte delle aree geografiche. Nuove specie emergono per le migliori tecniche diagnostiche di identificazione.

Ortu S, Sechi LA, Pirina P, Saba F, Vertuccio C, Penna G, Mura MS, Zanetti S. Rapid identification of *Mycobacterium tuberculosis* using Bactec 960 MIGHT and Real Time PCR- 25th Annual Meeting of the European Society for Mycobacteriology, Alghero-Sardinia, Italy- Abstract Book, 43PP, pag 37.

Si susseguono le note sulla diagnostica micobatterologica con PCR real time. Citiamo quelle italiane e la presente proveniente dalla Sardegna. Gli AA di Sassari hanno sviluppato una PCR real time impiegando iCycler iQ con un saggio TaqMan direttamente dal materiale. Hanno studiato 505 campioni diversi sia da pazienti sospetti che da pazienti in terapia. Il 2,7% sono risultati positivi microscopicamente, il 10% con la coltura e l'8,3% con la PCR real time. I campioni negativi alla PCR e positivi in coltura erano MNT. In conclusione per gli AA la PCR real time presenta sugli altri metodi i seguenti vantaggi: rapidità di rilievo, analisi di campioni multipli, saggio su singolo tubo, non cross contaminazioni e molto importante risultati quantitativi particolarmente utili nel corso di terapia.

## BATTERIOLOGIA: ASPETTI NON MOLECOLARI

Pardini M, Varaine F, Iona E, Arzumian E, Checchi F, Oggioni MR, Orefici G, Fattorini L. Cetyl-pyridinium chloride is useful for isolation of *Mycobacterium tuberculosis* from sputa subjected to long-term storage. *J Clin Microb* 2005; 43(1): 443-4.

Comunicazione già segnalata in quanto comparsa sugli Atti del 24 Annual Meeting of the European Society for Mycobacteriology, Alghero 27-30 giugno 2004. L'isolamento di Mt da sputi trattati con cetilpiridinio cloruro (CPC) e conservati 20+9 giorni era significativamente più elevato di

quello ottenuto da sputi non trattati e processati con NAC NaOH. L'aggiunta di CPC è utile per l'isolamento da sputi soggetti a conservazione per lunghi periodi e ricevuti da zone lontane del mondo.

Coban AY, et al. Susceptibilities of *Mycobacterium tuberculosis* to isoniazid and rifampin on blood agar. *J Clin Microb* 2005; 43(4): 1930-1.

Studio proveniente dalla Turchia sull'impiego di agar sangue come coltura. Tecnica datata da molti anni e ripresa dagli AA di Marsiglia alcuni anni fa. La ripresa ha posto all'attualità il tema da parte di molti laboratori. Gli AA turchi hanno valutato la tecnica per la resistenza alla rifampicina avendo come gold standard il Bactec. I risultati erano in accordo per RIF e INH nel 100 e 94% e in conclusione i risultati erano precoci con il sangue (2 settimane) rispetto alla crescita su 7H10 agar.

Garcia-Escribano N, Ruiz-Serrano MJ, Jimenez S, Pérez-Olaso O, Blazquez Abélian D, Garcia de Viedna D, Bouza E. Second line antituberculous drugs: usefulness of the E-test for susceptibility testing of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. 15th ECCMID, Copenhagen; Denmark, 2-5 aprile 2005, poster 566.

Gli AA di Madrid pongono al lettore uno studio comparativo in merito a resistenza fra il comune metodo delle proporzioni, il rilievo con Bactec 460 e l'impiego dell'E-test. È da sottolineare che per moxifloxacina e linezolid il saggio è stato eseguito solo con E-test. Le conclusioni degli AA in merito a presenza di MTB resistenti evidenziano che i metodi coincidono per il 100% per l'isoniazide e rifampicina, 27% per la streptomina, 27% rispetto al 33% per EMB, 13% rispetto a 20 per amikacina, 67% rispetto a 73% per claritromicina, 33% rispetto a 40% per ofloxacina e nel 7% dei casi in presenza di moxifloxacina e linezolid. I risultati con E-test sono stati letti dopo 10 giorni. Le conclusioni degli AA sottolineano l'interesse nel caso di moxifloxacina e linezolid e l'interesse nel laboratorio di routine in merito al saggio con E-test

Paramasivan CN e 4 coll fra cui DA Mitchison- Bactericidal action of gatifloxacin, rifampin, and isoniazid on logarithmic-and stationary-phase cultures of *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2005; 49(2): 627-1.

L'attività battericida della gatifloxacina, da sola e in combinazione con isoniazide e rifampicina, è stata studiata sulla fase di coltura del Mt H37Rv in fase di esponenziale e di stazionarietà. Sulla fase di coltura logaritmica l'attività battericida della gatifloxacina a 4µg/ml è risultata rapida e molto simile a quella della isoniazide. Alle concentrazioni di 0,24 e 4µg/ml la gatifloxacina aumentava l'attività della isoniazide. Il momento di batteriocidia della fase stazionaria è risultata bifasica. Durante i primi due giorni la gatifloxacina a 4 µg/ml ha aumentato la limitata attività battericida dell'isoniazide e della rifampicina, tuttavia nessuna attività battericida addizionale è stata rilevata durante l'attività incubatoria addizionale con l'isoniazide da sola o quando la gatifloxacina è stata aggiunta all'isoniazide o alla rifampicina. Questo suggerisce che la coltura in fase stazionaria conteneva una mistura di germi che occasionalmente si dividono e che furono uccisi durante i primi due giorni e veri germi persistono nella popolazione residua che si comportavano similmente a quelli presenti nelle lesioni umane. In considerazione: alla mancanza di possibilità

della gatifloxacina di venir aggiunta alla attività sterilizzante dell'isoniazide e rifampicina nel periodo di 2-6 giorni della esposizione nella fase stazionaria è molto improbabile che la gatifloxacina possa venir aggiunta alla terapia per accorciare la durata del trattamento

## BATTERIOLOGIA: ASPETTI MOLECOLARI

Lari N, Rindi L, Sola C, Bonanni D, Rastogi N, Tortoli E, Garzelli C-Genetic diversity, determined on the basis of katG463 and gyrA95 polymorphisms, spoligotyping, and IS6110 Typing, of *Mycobacterium tuberculosis* complex isolates from Italy-] Clin Microbiol 2005;43(4):1617-1624

Ceppi isolati di Mt complex in numero di 248 isolati in Toscana nel periodo di un anno sono stati genotipizzati per katG463 e gyrA95 polimorfismo con la tipizzazione standard spacer oligonucleotidi (spoligotyping) ed il saggio RFLP (restriction fragment length polymorphism) IS6110. La maggior parte dei ceppi isolati (n=212 pari all'85.5%) appartenevano al genotipo 2 e 3 che include la maggior parte degli isolati da pazienti nati in Italia. Gli isolati restanti erano organismi del gruppo 1 che sono prevalenti per i pazienti nati all'estero (29 su 36 pari all'80.6%). L'analisi spoligotype rivela per 116 casi un unico pattern e 34 clusters includendo 166 isolati. La combinazione di spoligotyping e IS6110 RFLP ha evidenziato 28 distinti clusters includenti 65 identici isolati (26.2%)-22 clusters con 2 isolati, 4 clusters con 3 isolati, 1 cluster con 4 isolati ed 1 cluster con 5 isolati evidenziando un basso livello di trasmissione nella comunità. I ceppi predominanti spoligotypes rappresentanti il 50% degli isolati clusterizzati sono stati trovati in 6 clusters che includono l'esteso tipo ST53 (clade T1) con 29 isolati (11.7% degli isolati totali) rispettivamente; tipo ST50 e ST47 (harlem family) con 18 isolati (7.3%) ed 8 isolati (3.2%) rispettivamente; tipo st47 (clade Latino-americano e Mediterraneo) con 13 isolati (5.2%); nuovo tipo ST117378 chiamato Toscana con 8 isolati (3.2%) e tipo ST1 (W-Beijing family) con 7 isolati (2.8%). Altre famiglie di spoligotype come *Mycobacterium africanum*, East African-Indian (EAI2/Manila) e Asia Centrale (CASI/Delhi) tutte includenti famiglie del gruppo genotipici 1 e la famiglia Cameroun (gruppo genotipico 2) sono state riscontrate prevalentemente fra i pazienti immigrati. L'evenienza di ritrovamento di genotipi originalmente ritrovati in aree geografiche distanti, aree con elevata incidenza di tb, può rappresentare un indice per i cambiamenti nella dinamica della trasmissione della tubercolosi nella regione in un prossimo futuro

Kempf MC e 5 coll-Long term molecular analysis of tuberculosis strains in Alabama, a state characterized by a largely indigenous, low-risk population-] Clinical Microbiology 2005;43(2):870-878

Riferiamo estesamente per i lettori di Myconews il lavoro degli AA USA che pur lavorando in una località (stato dell'Alabama) tanto diverso dalla nostra realtà costituisce una linea guida operativa della lotta contro la TB. Gli AA premettono che la TB è calata dal 12.8 per 100.000 abitanti nel 1988 a 5.9% per 100.000 nel 2001. Questo successo è stato ottenuto attraverso l'applicazione delle tradizionali strategie di controllo cioè l'identificazione e il trattamento dei casi attivi, legati ad un aggressivo programma di controllo. A causa dei limiti degli aspetti tradizionali di investigazione la tecnica di genotipizzazione è stata impiegata

per identificare i legami non sospettabili fra i casi di TB. Per far ciò RFLP con ricerca della sequenza di inserzione IS6110 è divenuto il primo metodo di ricerca per valutare la trasmissione. Per la differenziazione dei ceppi di Mt portatori di meno di sei copie di IS6110 spoligotyping è divenuto il metodo secondario di differenziazione. Alcune definizioni degli AA: Clusters sono stati definiti come gruppi di pazienti (almeno due casi nel periodo di sei anni) isolati con identici RFLP patterns cioè con lo stesso numero di copie IS6110 poste nelle posizioni identiche. Gli isolati con meno di 6 copie devono possedere IS6110 come identici spoligotyping in ordine di essere considerati un cluster. Casi non clusterizzati sono definiti come pazienti non aventi presentato un quadro RFLP/spoligotyping identificati nel corso dei sei anni di studio. La trasmissione recente è stata determinata con il fattore di correzione con il metodo n-1

## TERAPIA

Spellberg B, Yoo Th, Bayer AS-Reversal of linezolid-associated cytopenias, but peripheral neuropathy, by administration of vitamin B6-] Antimicrobial Chemotherapy 2004;54(4):832-835

Recentemente hanno trattato due pazienti con infezione disseminata da *M. abscessus* con terapia prolungata per 9 mesi di linezolid. Ambedue i pazienti hanno sviluppato citopenia collegata al linezolid ed un paziente neuropatia periferica. Dato che terapia prolungata con linezolid era richiesta (sic) gli AA hanno somministrato vitamina B6 (50 mg per os una volta al dì) e la citopenia in entrambi i pazienti dopo somministrazione di vitamina B6 è diminuita ma non la neuropatia periferica

## IMMUNOLOGIA-SIEROLOGIA

Weldingh K, Rosenkrands I, Meng Okkels L, Doherty Mark T, Andersen P-Assessing the serodiagnostic potential of 35 *Mycobacterium tuberculosis* proteins and identification of four novel serologic antigens-] Clin Microb 2005;43(1):57-65

Lo scopo dello studio condotto da ricercatori dello Statens Serum Institut di Copenhagen è stato quello di identificare nuove possibilità sierologiche per una futura sierodiagnosi della tubercolosi. Hanno clonato ed espresso 35 *M. tuberculosis* proteine come ricombinanti proteine in *E. coli* ed analizzato il loro potenziale sierodiagnostico. Dopo selezione hanno ritrovato quattro sieroantigeni TB9.7; TB 15.3; TB 16.3; TB 5.1 nessuno dei quali era stato identificato in precedenza. La tecnica di identificazione di questi viene descritta e sono presenti molti rilievi sul noto antigene a 38Kda. I quattro nuovi antigeni sono stati testati verso un panel di sieri di pazienti TB positivi e negativi microscopicamente provenienti da aree dove la TB è endemica e non endemica rilevando frequenze varianti dal 31 al 93% e con una specificità di almeno 97%. Il più potente degli antigeni identificati è risultato il TB16.3 che ha presentato una sensibilità dal 48 al 55% per campioni di pazienti TB residenti in Danimarca ed una sensibilità di 88-98% per pazienti TB dell'Africa. Molto importante che TB16.3 e TB9.7 sono stati riconosciuti dall'85% dei campioni coinfectati con HIV, un gruppo di pazienti nei quali è generalmente difficile rilevare anticorpi specifici per Mt. Gli AA concludono rilevando che sarà molto importante fondere questi nuovi antigeni in una singola molecola

## IGIENE

Selvaraju Suresh B, Khan Izhar UH, Yadav JS-Biocidal

activity of formaldehyde and nonformaldehyde biocides toward *Mycobacterium immunogenum* and *Pseudomonas fluorescens* in pure and mixed suspensions in synthetic metalworking fluid and saline-Applied and Environmental Microbiology 2005;71(1):542-546

L'attività microbica di 4 diversi biocidi è stata studiata nel liquido semisintetico dei metalli (MWF) su *Mycobacterium*

*immunogenum*, un agente sospetto responsabile di polmonite ipersensitiva e su *Pseudomonas aeruginosa*. I risultati indicano che *M. immunogenum* è più resistente che *Ps. aeruginosa* sui biocidi che liberano formaldeide (Grotan e Bioban), isotiazolone (Kathon) e biocidi fenolici (Preventol). I risultati indicano l'effetto protettivo del liquido che viene a contatto con i metalli ai comuni biocidi inclusi i batteri di significato clinico e i micobatteri

## CURIOSITÀ

cultura

### La morte misteriosa di Alessandro Magno: l'enigma sarà mai risolto?

Donato Fumarola, già Professore Ordinario di Microbiologia Medica, Università di Bari

Fare il punto, anche solo come tentativo, sulle possibili cause della improvvisa morte ("brutale" ha scritto C. Mossé) di Alessandro Magno, avvenuta a soli 33 anni (32 e otto mesi, precisa R. Caratini) dopo appena dodici giorni di una oscura malattia, è un impegno oltremodo arduo: Infatti, giudicati inaffidabili dagli esperti i libri e gli scritti di Clitarco e di altri apologeti dell'epoca del grande macedone (Callistene, Aristobulo, Carete tanto per fare qualche nome) la carenza di testi contemporanei alla vicenda rende difficoltosa la ricostruzione dei fatti. Questa, pertanto, è affidata a storici di qualche secolo dopo: Arriano, Curzio Rufo, Diodoro Siculo ed altri, con Plutarco su tutti, lo storico dell'antichità per definizione, con le Vite Parallele "il libro dei libri" per Vittorio Alfieri. Per questo nostro studio, che rappresenta la continuazione aggiornata di una nota pubblicata su *Microbiologia Medica* (2004, 19(1), XI-XIII) abbiamo utilizzato il volume dedicato ad Alessandro (l'altra metà è per Giulio Cesare), XVII edizione, BUR, 2003, con introduzione, testo greco a fronte, traduzione e note a cura di D. Magnino. Abbiamo inoltre consultato i saggi critici di alcuni storici moderni (che riportano ampi riferimenti ai cosiddetti Diari ed alle lettere di Alessandro, e ai passi degli antichi storici sopradetti): P. Citati, C. Mossé, P. Faure, R. Caratino, A.B. Bosworth, R. Lane Fox (consulente per la sceneggiatura del film di Oliver Stone), il maestoso volume "Alessandro Magno: Immagini come storia" di P. Moreno (2004) con una straordinaria iconografia (dipinti, affreschi, sculture, mosaici, miniature). Segnaliamo altresì il romanzo di K. Mann (1929) e l'opera di Valerio M. Manfredi (1999) dalla quale – dato il grande successo editoriale – si intende ricavare un altro film, con la sua consulenza storica.

Come introduzione all'argomento prefissoci, qualche notizia di interesse medico sulla vita breve ma intensa di Alessandro (356-323 a.C.). Innanzitutto (Plutarco 4:5-8) pare che Alessandro avesse normalmente una temperatura corporea che oggi si direbbe sub-febbrile: "il calore del corpo, come sembra, lo rese anche colerico e incline al bere". Per quanto concerne eventi morbosi che lo colpirono durante la sua concitata attività, viene segnalato che - durante la guerra contro i Persiani – la sua spedizione ebbe una sosta in Cilicia in quanto, dopo un bagno nelle gelide acque del Cidno,

presentò un disturbo caratterizzato da una non ben definita astenia che lo bloccò per qualche tempo. Nessuno tra i medici osava curarlo ritenendo che il male fosse superiore a qualsiasi rimedio, temendo anche le accuse dei Macedoni, in caso di insuccesso. In tale situazione (19:2-10) il padre Filippo gli preparò una bevanda (della quale in Plutarco non è descritta la composizione) che Alessandro bevve tranquillamente e senza indugio. Dopo una reazione allarmante (perdita della voce, delirio fino al quasi coma) si riprese brillantemente e si presentò ai suoi fedeli preoccupati. In battaglia, sempre nella guerra contro i Persiani, fu ferito ad una coscia con un pugnale da un guerriero nemico (secondo Carete dalla spada del re Dario in un combattimento ravvicinato): comunque, nulla di male gli derivò da quella ferita, secondo Plutarco (20:8-9). Comunque, le più gravi ferite in battaglia furono quelle che subì nella campagna in India, dopo la vittoria sul re Poro. Al ritorno ci fu uno scontro con i Malli, i più bellicosi tra i guerrieri Indii: Alessandro come sempre temerario ed incurante del pericolo, si gettò nella mischia. Fu ferito in varie parti del corpo, ma – in particolare – fu colpito da una freccia che si conficcò nel costato e anche al collo da una mazza ferrata. I suoi fedeli lo trasportarono in una tenda, qui gli fu estratta l'asta penetrata nell'osso: "perse conoscenza e fu vicinissimo a morire, poi però si riprese e, dopo qualche tempo, quando si accorse che fuori i Macedoni tumultuavano desiderosi di rivederlo, indossò il mantello e uscì sul campo" (63:2-13).

I fatali dodici giorni che bruciarono la sua esistenza (75:5-6; 76:1-9) iniziano dopo il grande ritorno a Babilonia, il 29 maggio 323 a.C., primo giugno secondo R. Caratino. Alessandro, dopo un sontuoso festino con Nearco, l'ammiraglio della flotta macedone, fu invitato da Medio, condottiero tessalo, ad un altro banchetto con abbondanti libagioni (prodigiose bevute, scrive lo storico moderno A.B. Bosworth), durato l'intera notte fino alla tarda mattinata. All'improvviso lo prese un violento attacco febbrile, accompagnato da acuto dolore al costato. La febbre non cessò mai, anzi continuò ininterrotta e sempre più intensa nei giorni successivi, con sete, sudorazione e torpore crescente. Negli ultimi giorni comparve afonia e progressiva debolezza muscolare tanto che, per compiere i rituali sacrifici agli

Dei ed i bagni quotidiani, dovette essere trasportato in lettiga nei vari padiglioni della reggia, ed anche oltre l'Eufrate in altri alloggiamenti regali, fino alla sera del 10 giugno (13 giugno per R. Caratini) data della sua fine. Per inciso, a proposito della sua morte, il poeta latino Marco A. Lucano, nipote del grande filosofo Seneca, la definì nel poema epico *Farsaglia* (in sintonia con le feroci espressioni scritte dallo zio sul personaggio Alessandro) come "il destino vendicatore del mondo nei riguardi del fortunato predone". Sulle possibili cause dell'evento le versioni sono ovviamente molteplici. In considerazione degli scarni sintomi clinici riferiti inizialmente, da familiari ed amici, si pensò ad un avvelenamento acuto (pratica comune a quel tempo per eliminare gli avversari): comunque non riscosse molto credito dagli storici antichi, ed anche da quelli moderni è ritenuta poco convincente in quanto i veleni dell'epoca (arsenico, piombo, stricnina, belladonna, elleboro) ovvero farmaci tossici se somministrati in dosi generose sono poco compatibili con una febbre continua e con una sopravvivenza di quasi due settimane. A questa ipotesi si allaccia il ruolo determinante dello straordinario consumo di vino (diversi litri) attribuito ad Alessandro, sia come abitudine che nell'episodio terminale. Comunque, per Alessandro, moderato e controllato nel cibo (22:7) la qualifica di etilista, sostenuta da molti è mitigata da Aristobulo (apologeta contemporaneo) e dallo stesso Plutarco (21:3): entrambi giustificano il lungo tempo consumato dinanzi ad una coppa o ad un cratere di vino con il suo piacere di conversare a lungo con gli amici (dello stesso parere è lo storico moderno Paul Faure). Restano ora da esaminare le ipotesi relative alle più diverse malattie (infettive e non) che il condottiero macedone poteva aver contratto durante i dieci e più anni delle varie campagne di guerra, con spedizioni di migliaia di chilometri, in condizioni precarie sia ambientali (deserto, paludi) che di clima (caldo torrido, ghiaccio e neve) come di alimentazione. Volendo riassumere la complessa problematica, sempre tenendo presente le scarse notizie cliniche disponibili, corre obbligo sintetizzare due recenti articoli apparsi nella letteratura medica ad opera di studiosi americani, che – ovviamente – hanno letto Plutarco. La prima ricerca è stata condotta da un gruppo di infettivologi di Baltimora (Oldach e coll.: *New Engl. J. Med.* 1998), la seconda da Marr (epidemiologo della Virginia) e Calisher (virologo del Colorado) pubblicata su *Emerging Infectious Diseases* (dicembre 2003). Nel primo articolo, dopo una accurata diagnostica differenziale sui sintomi riportati, sono scartate alcune patologie non infettive (porfiria acuta, pancreatite acuta) ed escluse alcune malattie infettive (poliomielite, schistosomiasi, leishmaniosi). Gli Autori pongono la loro attenzione sulla malaria e sulla febbre tifoide, entrambe compatibili col quadro clinico. La malaria era già nota a quei tempi (Ippocrate l'aveva individuata già un secolo prima dell'era di Alessandro): sulla base delle attuali conoscenze eziologiche avrebbe potuto identificarsi con la febbre terzana maligna da *Plasmodium falciparum* (per inciso, in un recente articolo in merito al problema, il protozoo in questione viene indicato, su un quotidiano di informazione, come.. vibrione..!). Ancora più compatibile, per il gruppo di Oldach, è la febbre tifoide complicata da perforazione intestinale, paralisi ascendente ed encefalopa-

tia tifoide: per inciso in greco *tufus* significa torpore, obnubilamento del sensorio, ben presenti nella sintomatologia descritta. Questa ipotesi Oldach la riafferma anche di recente (luglio 2004) in un dibattito apparso sulla medesima rivista nella quale era comparso il lavoro di Marr e Calisher. L'ipotesi formulata da questi ultimi studiosi è del tutto originale ed assai suggestiva (purtroppo resta sempre una ipotesi): indica nella febbre del Nilo Occidentale la misteriosa malattia, mortale per Alessandro Magno. Trattasi di una zoonosi, a volte letale, che può colpire diverse specie animali: uccelli (in primo piano i corvi), ma anche cavalli (spesso come grave encefalopatia), cani, coccodrilli, elefanti ed altri (domestici o selvatici). Può interessare l'uomo, oltre che nelle aree che comprendono Egitto, Libano, Israele, Iran, Iraq, anche l'emisfero occidentale. La patologia nell'uomo ha suscitato grande attenzione quando è stata individuata e diagnosticata per la prima volta negli USA (1999), in concomitanza con una singolare moria di corvi. È legata ad un ribovirus, West Nile Virus (WNV), famiglia Flavivirus (comprendente diversi membri accomunati da manifestazioni cliniche a volte di grave encefalopatia) veicolato da varie specie di zanzare *Culex*. L'ipotesi è molto suggestiva per le singolari vicende che, seguendo Plutarco, hanno fatto incontrare Alessandro ed il suo esercito con i corvi, in circostanze a volte interpretate dal re come auspici favorevoli, a volte come infausti presagi. A quest'ultimo proposito Plutarco (73:2) in occasione del grande ritorno verso Babilonia (325 – 324 a.C.) segnala che Alessandro, giunto presso le mura della città, si imbatté in uno stormo di corvi che si beccavano furiosamente e molti caddero morti ai suoi piedi. Si può obiettare a questa ipotesi che dagli storici antichi non risulta segnalata una malattia analoga in altri militari vicini al re: si può replicare che agli storici interessavano i fatti del re e non quelli degli altri. Ancora, come si è accennato, la febbre del Nilo può colpire i cavalli con una grande encefalopatia (di recente, 2000, sono stati segnalati in Toscana casi di tale gravità da richiedere l'abbattimento degli animali). Orbene, a parte le perdite in battaglia, nessun evento del genere risulta leggendo Plutarco e gli altri storici del tempo, pur rappresentando la cavalleria una parte notevole dell'esercito macedone. Il mitico cavallo tessalo Bucefalo, della razza omonima (erano marcati con una testa di bue sulla spalla) che accompagnò Alessandro in quasi tutte le spedizioni e fu gravemente ferito nella famosa battaglia di Idaspe contro l'esercito (con 300 elefanti) del re Poro nella più lontana campagna di guerra (India), morì anche per affaticamento e per vecchiaia. Il cane Peritas, anch'esso come bucefalo prediletto dal re (61:3) morì per vecchiaia e non per altra malattia (si è detto che anche i cani possono essere colpiti dal virus della febbre del Nilo). Un'altra obiezione, emersa sempre nel dibattito recente di cui sopra, è stata posta da infettivologi italiani (Galli e coll., Milano): con ricerche molecolari sulla evoluzione (filogenesi) del West Nile Virus, non ritengono verosimile che il virus potesse essere presente 2300 anni fa. Marr e Calisher, pur apprezzando la meravigliosa (marvelous) ricerca, replicano che le procedure attualmente in uso per stabilire "l'antichità" di un virus, necessitano ancora, per una conferma, tecniche più affidabili.

D'altro canto, se è vero che - per i batteri - da tempo

è dimostrato che una determinata specie microbica può subire nel tempo rimaneggiamenti e variazioni rispetto al microrganismo iniziale (evolvendo verso specie a volte differenti dalla antica), a maggior ragione questo “riassorbimento” potrebbe verificarsi per i virus dei quali si conosce la straordinaria instabilità genetica. Tenendo conto, ancora, dei passaggi ripetuti nel tempo in animali recettivi (uomo incluso) ed ai confronti con le difese immunitarie degli ospiti (i virus sono parassiti obbligati di cellule) non si può escludere la possibilità che, da un primitivo virus encefalitogeno, si possano “selezionare” nei millenni varie specie: e

i Flavivirus, come si è detto, comprendono attualmente numerosi e distinti membri, tutti apparentati dall’effetto encefalitogeno. In definitiva questa “evoluzione” si può ben inquadrare in una suggestiva visione darwiniana anche di questa problematica, senza essere considerata azzardata e/o eretica.

In conclusione, la morte di Alessandro Magno, come del resto la sua breve ma intensa e concitata esistenza, è ancora legata alla leggenda: l’enigma della sua malattia, pertanto, non potrà mai essere risolto ma continuerà a rimanere avvolto nel mito che dura ormai da oltre duemila anni.