

OPINIONI

di EUGENIO A. DEBBIA

Le resistenza da parte dei batteri agli antibiotici maggiormente utilizzati in terapia ha ormai assunto una dimensione globale coinvolgendo anche l'ambiente comunitario, per lungo tempo esente da queste problematiche, ma ove le segnalazioni di ceppi resistenti sono ormai purtroppo sempre più frequenti. La comunità scientifica si chiede quali siano le misure più opportune da adottare per arginare questo fenomeno, pur individuando nello sviluppo di nuovi principi attivi unitamente ad un impiego più appropriato dei farmaci disponibili le soluzioni più valide. L'intenso uso degli antibiotici, anche in contesti diversi da quelli del controllo delle infezioni batteriche, è giustamente considerato alla base dell'evoluzione dei microrganismi verso la resistenza a questi composti. Tale fenomeno è emerso parallelamente all'introduzione degli antibiotici in terapia, ma solo recentemente si osservano fenotipi di resistenza molto variegati rispetto al passato ove le differenze tra le minime concentrazioni inibenti (MIC) registrate con i ceppi sensibili e quelle con gli stipti resistenti erano molto nette.

È ben noto che i batteri, sia a causa di mutazioni, sia per scambio di materiale genetico con altri microrganismi, possono ereditare le più disparate proprietà biochimiche, incluso la capacità di sopravvivere alla presenza di antimicrobici. Esistono tuttavia, ceppi che in un solo evento genetico acquisiscono la completa resistenza ad alcuni antibiotici e, altri, che evolvono verso tale fenotipo gradualmente attraverso più eventi successivi. Pertanto, accanto a stipti totalmente resistenti che si differenziano nettamente in termini di MIC rispetto ai germi sensibili, si ritrovano sempre più facilmente batteri che mostrano un fenotipo così detto "borderline", più difficili da individuare a causa della scarsa differenza tra la concentrazione di antibiotico necessaria per inibirne la crescita o consentire lo sviluppo. In molti casi, infatti, i risultati possono essere influenzati da piccole variazioni dell'inoculo, della temperatura o di altri fattori che potrebbero modificare i valori delle MIC con conseguente spostamento del microrganismo dalla categoria sensibile a quella resistente, intermedia o viceversa. In altre situazioni il ceppo manifesta un fenotipo non facilmente decifrabile a causa di alterazioni del tasso di crescita o di altre perturbazioni fisiologiche causate dalla mutazione che determina tale resistenza. Il germe può, inoltre, risultare sensibile ai saggi sulla base dei valori limite ma celare la presenza di mutazioni che rappresentano già

un'evoluzione verso l'insensibilità e che può essere individuata solo con ulteriori prove mirate. Se si prende come esempio il caso dei ceppi produttori di b-lattamasi a spettro esteso (ESBL), NCCLS suggerisce di porre molta attenzione sui dati degli aloni registrati con la metodica dell'antibiogramma indicando che, anche se il ceppo risulta sensibile all'antibiotico saggiato, ma l'alone appare di dimensioni ridotte rispetto ai valori medi osservati con i ceppi di controllo, conviene effettuare prove addizionali al fine di confermare la presenza di un ceppo produttore di ESBL. Vale la pena ricordare inoltre, che in vivo si instaurano facilmente condizioni di concentrazioni sub-inibenti la crescita che sono note favorire la selezione di germi resistenti specie per stipti che possiedono meccanismi in corso di evoluzione portandoli facilmente alla totale insensibilità. In questi casi al clinico rimane l'opzione di un farmaco alternativo o in mancanza di scelte l'uso di una combinazione di antibiotici.

Quindi è soprattutto il microbiologo che può dare al clinico indicazioni per il corretto uso degli antibiotici fornendogli indicazioni importanti sui fenotipi di resistenza più o meno palesi ritrovati attraverso le prove di laboratorio e sul loro significato. Un piccolo accorgimento potrebbe ulteriormente aiutare sia il clinico sia il microbiologo.

Ad esempio tutti gli esami biochimici o altri refertati dal laboratorio presentano anche i valori normali in cui un parametro dovrebbe essere incluso. Nel caso che vi siano valori prossimi a quelli soglia il clinico può consigliare al paziente di porre maggiore attenzione alla dieta alimentare o suggerire altre misure per non favorire un processo verso una conclamata patologia. Sulla scorta di questo esempio anche il microbiologo invece di refertare un ceppo soltanto S, I, o R dovrebbe dare anche informazioni su quelli che sono i criteri con cui si ottengono tali dati.

Ad esempio se il laboratorio indicasse nella risposta il valore del diametro in mm o quello della MIC riportando accanto i valori normali delle diverse categorie, sarebbero messi in evidenza quei patogeni che presentano livelli di sensibilità prossimi al limite soglia a testimonianza di una possibile evoluzione negativa.

Questa informazione sarebbe più completa e potrebbe aiutare il clinico ad una scelta più corretta degli antibiotici da utilizzare riducendo sia il rischio di un fallimento terapeutico sia la diffusione di stipti che veicolano la resistenza agli antibiotici.

BIBLIOGRAFIA *selezionata*

ANTIMICROBICI a cura di SERGIO FRUGONI

GARENOXACINA

Cottagnoud PH, Tauber MG.-New therapies for pneu-

mococcal meningitidis-

Expert Opin Investig Drugs. 2004 Apr; 13(4): 393-401
In modelli sperimentali animali (conigli), gli autori hanno indotto meningite da S.pneumoniae. Gli animali sono stati trattati con beta-lattamici (cefepime, meropenem, ertapenem), chinoloni (garenofloxacin, gemifloxacin, gatifloxacin, moxifloxacin) e un antibiotico lipopeptidico (daptomicina). Una speciale attenzione è stata posta al ruolo delle

associazioni antibatteriche che utilizzano nuove molecole per le problematiche di aumento di resistenze in *S.pneumoniae*, dovute spesso alla loro attività sinergica.

Smith RP, Baltch AL, Ritz WJ, Carpenter AN, Halse TA, Bopp LH.-

In vitro activities of garenoxacin and levofloxacin against *Chlamydia pneumoniae* are not affected by presence of *Mycoplasma DNA*-Antimicrob Agents Chemother. 2004 Jun; 48(6): 2081-4.

Gli autori hanno studiato l'attività in vitro di garenoxacin e levofloxacin nei confronti di ceppi di *C.pneumoniae* isolati dal tratto respiratorio e dal tessuto arterioso. Con tecniche PCR hanno rilevato la concomitante presenza nei tessuti di DNA di *Mycoplasma spp.* La MIC(90) di garenoxacin è risultata di 0,06 mcg/mL, per levofloxacin di 2,0 mcg/mL. Gli autori concludono che la maggior parte dei campioni biologici del tratto respiratorio e del tessuto arterioso da loro studiati, mostrano la copresenza del *Mycoplasma spp.* senza però influenzare l'attività nei confronti di *C.pneumoniae* dei fluorochinolonici testati.

Pereyre S, Renaudin H, Bebear C, Bebear CM.-In vitro activities of the newer quinolones garenoxacin, gatifloxacin, and gemifloxacin against human mycoplasmas-Antimicrob Agents Chemother. 2004 Aug; 48(8): 3165-8. L'attività di garenoxacin, gatifloxacin e gemifloxacin è stata comparata con quella di 4 fluorochinolonici nei confronti di *Mycoplasma* e *Ureaplasma* inclusi ceppi geneticamente resistenti ai fluorochinolonici. Garenoxacin ha mostrato la più elevata attività, seguita dalla gemifloxacin, moxifloxacin e gatifloxacin. L'attività minima battericida è risultata più bassa in garenoxacin, gatifloxacin e gemifloxacin rispetto agli altri fluorochinolonici testati.

Athamna A, Athamna M, Medlej B, Bast DJ, Rubistein E.- In vitro post-antibiotic effect fluoroquinolones, macrolides, beta-lactams, tetracyclines, vancomycin, clindamycin, linezolid, chloramphenicol, quinupristin/dalfopristin and rifampicin on *Bacillus anthracis*-Antimicrob Chemother. 2004 Apr; 53(4): 609-15

Lo scopo di questo studio è stato quello di investigare in vitro l'effetto post antibiotico di 19 agenti antibatterici contro due ceppi di *B.anthraxis*. I risultati indicano che l'effetto post antibiotico non è correlato con la MIC, ma alla rapidità con cui il microrganismo viene distrutto. Queste osservazioni possono avere importanza sulle modalità di trattamento delle infezioni umana da *B.anthraxis*.

Entenza JM, Vouillamoz J, Glauser MP, Moreillon P.-Efficacy of garenoxacin in treatment of experimental endocarditis due to *Staphylococcus aureus* or viridans group streptococci.

Antimicrob Agents Chemother. 2004 Jan; 48(1): 86-92. In ratti in cui veniva indotta endocardite da *S.aureo* sensibile o resistente a ciprofloxacina e meticillina o da *Streptococchi viridanti* sensibili o resistenti alla penicillina, è stata studiata l'attività di garenoxacin. In vivo non si sono selezionati ceppi resistenti a garenoxacin, mentre si sono osservati per levofloxacin. Il 90% dei ceppi di *Streptococchi viridanti* sono stati eradicati con trattamento di garenoxacin, mentre levofloxacin ha eradicato il 40% dei ceppi. Le percentuali di eradicazione di *S.aureo* sono risultate superiori a quelle degli *Streptococchi*. Il trattamento con Garenoxacin risulta essere una valida alterna-

tiva alla terapia classica nelle infezioni da *S.aureo* e *Streptococchi viridanti*.

Azoulay-Dupuis E, Bedos JP, Mohler J, Peytavin G, Isturiz R, Moine P, Rieux V, Cherbuliez C, Pechere JC, Fantin B, Kohler T.-Activities of garenoxacin against quinolone-resistant *Streptococcus pneumoniae* strain in vitro and in a mouse pneumonia model.-Antimicrob Agents Chemother. 2004 Mar; 48(3): 765-73.

In colture cellulari di polmone di topo infettate con ceppi di *S.pneumoniae* resistenti ai chinolonici è stata comparata l'attività antibatterica e la capacità di selezionare mutanti resistenti di garenoxacin e trovafloxacin. Garenoxacin e trovafloxacin hanno mostrato una elevata attività sia nei confronti di ceppi selvaggi che di mutanti senza mostrare significative differenze tra le due molecole. L'efficacia delle due molecole risulta però minore nei ceppi con mutazioni di resistenza ai chinolonici.terapeuticamente efficace contro infezioni sostenute da microrganismi gram positivi. Si è dimostrata efficace soprattutto in malati critici ospedalizzati in terapia intensiva con alterazioni nell'omeostasi che rende difficile la penetrazione tissutale di vari farmaci antimicrobici. L'azione di Quinupristin/Dalfopristin è potenziata, in casi di infezioni localizzate in siti difficili da raggiungere farmacologicamente, dalla combinazione con altri farmaci quali Linezolid, Cefepime, glicopeptidi.

EVIDENCE-BASED MEDICINE

a cura di GIUSEPPE GIOCOLI

JE Fischer et al. Quantifying Uncertainty : Physicians' Estimates of Infection in Critically Ill Neonates and Children. Clin Infect Diseases 2004;38:1383-90

JM Mrus. Getting beyond Diagnostic Accuracy: Moving toward Approaches That Can Be Used in Practice (Editorial). Clin Infect Diseases 2004;38:1391-93

Misurare l'incertezza del clinico nel formulare la diagnosi. È un tema attuale, oggetto di dibattito nelle liste di discussione, (vedi www.jscmail.ac.uk/EVIDENCE-BASED-HEALTH) e di diversi articoli in riviste cliniche e di laboratorio. Lo svizzero Fischer e suoi colleghi statunitensi attirano l'attenzione sulla diagnosi d'infezione nei bambini piccoli in condizioni critiche, per la quale sono in studio diversi test rapidi. I dati di Fischer e colleghi dimostrano che su entrambe le sponde dell'oceano i pediatri se la cavano piuttosto bene nelle loro previsioni, basate solo sui dati clinici, e sanno distinguere i bambini con infezioni sistemiche in quasi il 90% dei casi, anche prima di fare l'emocoltura. "Quando si studiano nuovi marcatori per le sepsi neonatali, più che l'intrinseca accuratezza conta il loro potere di aumentare le capacità del clinico a fare diagnosi," osservano i ricercatori. È il concetto di 'valore aggiunto', messo a fuoco nell'editoriale di Joseph Mrus, dell'università di Cincinnati. "I dati di Fischer rafforzano l'idea che quanto al clinico detta l'esperienza rappresenta di per sé un 'test' importante per la diagnosi," afferma Mrus. "Per la valutazione di qualsiasi esame aggiuntivo è necessario tenerne conto: esso sarà utile solo se produrrà un incremento delle capacità discriminative del clinico, al di sopra di quelle di cui già dispone". Secondo lo studioso americano, a migliorare la validità di tale giudizio

contribuiscono procedure multivariabili basate sulle caratteristiche demografiche e cliniche della popolazione studiata nonché sulla prevalenza della malattia.

AS Glas et al. The diagnostic odds ratio : a single indicator of test performance. *J Clin Epidemiology* 2003;56:1129-35

MH Katz. Multivariable Analysis: A Primer for Readers of Medical Research. *Ann Int Med* 2003; 138:644-50
Argomenti questi che per quasi tutti noi sono una specie di scatola nera. La conseguenza è che, dopo aver letto certi lavori scientifici, si è portati ad accettare passivamente le conclusioni degli autori. O peggio, non si è in grado di utilizzare ortodosse procedure di validazione per accertare le prestazioni dei test. Afina Glas, un'epidemiologa olandese, ha cercato di risolvere il problema scrivendo un 'semplice' saggio sulle proprietà degli Odds ratio diagnostici (DOR), elaborabili dalla classica tabella 2x2. Proverò a darne una definizione: è il rapporto tra i risultati 'veri' e 'falsi' del test in studio. Per cui appare intuitivo che se vien fuori un 1, il test non vale nulla: è come gettare in aria una moneta. Invece, quanto più il risultato si allontana dall'unità, tanto più il test di dimostrerà valido. I DOR sono indispensabili per eseguire l'analisi multivariabile, sulla quale si dilunga l'articolo di Katz. Anche in questo caso, una semplice spiegazione è che tale tipo di analisi consente di determinare il contributo indipendente di vari fattori ad un singolo evento. In altri termini si può utilizzare per valutare se un test, aggiunto ad altri elementi che concorrono alla diagnosi, può migliorarne l'accuratezza. Si tratta di una procedura che si mantiene nell'alveo della logica bayesiana, in quanto parte dal presupposto di una probabilità pre-test di malattia che vari tipi di modelli diagnostici, compreso quello che contiene il test in studio, andranno a modificare in un valore predittivo.

GM Leung et al. A Clinical Prediction Rule for Diagnosing Severe Acute Respiratory Syndrome in the Emergency Department. *Ann Int Med* 2004; 141:333-42
I modelli diagnostici fanno parte di regole cliniche per predire le malattie e, malgrado i progressi nel campo dei test molecolari, queste si rivelano una necessità in molte situazioni: la diagnosi non si fa solo con i test di laboratorio. Prendiamo il caso della SARS: la PCR non è abbastanza sensibile, per cui il poter predire l'infezione in base all'anamnesi, all'esame fisico e a semplici esami eseguibili all'ingresso in ospedale può avere un duplice effetto. Il primo è quello che ha spinto Gabriel Leung e i suoi collaboratori del SARS Collaborative Group di Hong Kong ad effettuare l'indagine pubblicata sugli *Annals*. "L'assegnazione dei pazienti a classi di rischio permette di decidere sul tipo d'isolamento e di cure ai quali sottoporre i pazienti all'atto del ricovero, prima che i risultati di test più definitivi come la RT-PCR siano disponibili," spiega il ricercatore cinese. "Tutto questo si può rivelare di particolare utilità in corso di epidemia, quando la necessità di sottoporre a screening un gran numero di persone finisce per sopraffare le capacità del sistema a contenere l'emergenza". Il secondo effetto, che Leung non menziona, è che l'assegnazione dei pazienti a classi di rischio rende più comprensibili i risultati dei test molecolari. Un risultato negativo della RT-PCR, se riferito ad un paziente a basso rischio potrebbe con ragionevolezza escludere l'infezione, diversamente dal caso in cui il rischio raggiunge livelli elevati. È sempre un problema di logica bayesiana: "la diagnosi è un aggiornamento delle opi-

nioni del clinico con le informazioni imperfette fornite dai test," hanno detto gli esperti. Ma quanto i test siano imperfetti bisogna pur che qualcuno lo accerti.

INFEZIONI MATERNO FETALI E NEONATALI

a cura di Lidia Ricci

Okumura K, Schroff R, Campbell R, Nishioka L, Elster E. Group A streptococcal puerperal sepsis with retroperitoneal involvement developing in a late postpartum woman: case report.

Am Surg. 2004 Aug;70(8):730-2.

Attualmente la sepsi puerperale da Streptococco di gruppo A (SBEA) è un evento poco frequente, tuttavia pubblicazioni scientifiche recenti indicano il riemergere di ceppi virulenti, responsabili di shock tossico ed insufficienza multiorgano. Gli autori descrivono un caso di sepsi puerperale da Streptococco di gruppo A in una donna di 29 anni, sottoposta a taglio cesareo. Gli aspetti principali emersi sono due:

a. virulenza del ceppo

b. trasmissione intrafamiliare

SBEA è stato isolato dal liquido prelevato alla donna in sede retroperineale e dal tratto faringeo del marito. Entrambi gli isolati appartenevano al sierotipo M1 che insieme al sierotipo M3 è agente di sindrome da shock tossico (STSS). Gli autori sottolineano la necessità di sottoporre a profilassi antibiotica le donne gravide che hanno contatti con pazienti infetti da Streptococco beta emolitico di gruppo A.

Clark PC, Yencha MW, Hart AK.

Management of isolated extrapulmonary tuberculosis in a pregnant patient *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2004 Aug; 113:648-51

L'incremento di prevalenza di HIV sieropositività e l'emergenza di ceppi di *Mycobacterium tuberculosis* multiresistenti sono causa dell'aumento di incidenza di tubercolosi a livello mondiale. In gravidanza la tubercolosi non è frequente ed in genere il sito di infezione è polmonare. Il riscontro di adenopatia è pertanto secondario a disseminazione polmonare. Gli autori di questo lavoro descrivono un insolito caso di adenite cervicale, unilaterale, senza aspetti di coinvolgimento polmonare, che ha fornito lo spunto per due importanti considerazioni:

1. difficoltà di trattamento terapeutico

2. necessità di un approccio multidisciplinare.

Lichtenberg ES, Henning C.

Conservative management of clostridial endometritis. *Am J Obstet Gynecol.* 2004 Jul;191(1):266-70

Obiettivo di questo studio è stato quello di dimostrare che il trattamento antibiotico intravenoso, accompagnato da un'attenta sorveglianza, può evitare l'isterectomia in donne con documentata o sospetta infezione da clostridi e senza segni di sepsi. Gli autori riferiscono la loro esperienza relativa ad un periodo di 22 mesi. Hanno seguito 5 casi di donne con infezione intrauterina da *Clostridium* spp., con riscontro positivo della coltura eseguita su materiale endouterino o su sangue (emocoltura). Hanno inoltre eseguito una revisione della letteratura esistente. Dopo evacuazione uterina le cinque pazienti gravide sono state sot-

toposte a trattamento antibiotico e monitorate continuamente. La casistica descritta indica la possibilità di non ricorrere necessariamente all'isterectomia come unica opzione terapeutica clinica.

Osrin D, Vergnano S, Costello A.

Serious bacterial infections in newborn infants in developing countries. *Curr Opin Infect Dis.* 2004 Jun;17(3):217-24.

Il presente studio dovrebbe far riflettere e sensibilizzare il lettore sul problema trattato, riguardante l'altissima mortalità neonatale nei paesi sottosviluppati. Gli autori hanno analizzato gli aspetti clinici, l'eziologia, e le possibili misure idonee a ridurre l'incidenza e prevalenza delle infezioni, che causano questi decessi.

Si osserva che:

1. le infezioni batteriche sono la causa più frequente di ricovero in ospedale e di decessi in comunità
2. le patologie più diffuse sono la meningite, la batteriemia e le infezioni dell'apparato respiratorio
3. i batteri più frequentemente coinvolti sono *E.coli*, *Klebsiella spp*, *Stafilococco aureo*, *Streptococcus pyogenes* e *Streptococco di gruppo B*.

Gli autori elencano anche le strategie utili a diminuire l'incidenza e prevalenza delle infezioni:

- a) controllo del tetano neonatale
- b) diagnosi rapida e terapia delle infezioni sessualmente trasmesse
- c) miglioramento delle condizioni alimentari e igieniche delle gravide e neonati
- d) controllo delle malattie respiratorie comunitarie
- e) controllo e cura delle sepsi neonatali.

Honest H, Bachmann LM, Knox EM, Gupta JK, Kleijnen J, Khan KS.

The accuracy of various tests for bacterial vaginosis in predicting preterm birth: a systematic review. *BJOG.* 2004 May;111(5):409-22.

La ricerca delle evidenze scientifiche consente di verificare l'efficacia dei test di laboratorio e dei percorsi clinici, pertanto è di sicuro interesse questo studio in cui gli autori analizzano i risultati emersi da un accurata revisione sistematica, eseguita da due gruppi indipendenti, per determinare quale fosse il test più accurato per la diagnosi di vaginosi batterica, probabile causa di parto pretermine. Sono stati considerati quattro metodi di diagnosi: colorazione di un preparato al Gram del secreto vaginale valutato secondo Nugent, colorazione di Gram valutata secondo Spiegel, gas-cromatografia ed infine metodo clinico di Amsel.

Dal calcolo di Likelihood-ratio applicata ai vari metodi eseguiti, su soggetti asintomatici al terzo trimestre di gravidanza, emerge che:

1. i segni clinici hanno un LR+ di 0,98 ed un LR- di 1,00
2. la colorazione di Gram valutata secondo Nugent consente un valore di LR+ pari 1,6 ed un LR- pari a 0,9.
3. il metodo Spiegel determina un valore di LR+ pari a 2,4 ed un valore di LR- pari a 0,81

Il calcolo di LR nei soggetti sintomatici indica:

1. il metodo Spiegel consente un valore di LR+ pari a 1,3 ed un valore di LR- pari a 0,9

Gli autori concludono affermando che non c'è differenza nell'accuratezza dei test considerati per la diagnosi di vaginosi batterica utile a prevenire i parti pretermine.

Kotecha S, Hodge R, Schaber JA, Miralles R, Silverman

M, Grant WD.

Pulmonary *Ureaplasma urealyticum* is associated with the development of acute lung inflammation and chronic lung disease in preterm infants. *Pediatr Res.* 2004 Jan;55(1):61-8.

Gli autori hanno eseguito un'indagine con l'utilizzo della polimerasi chain reaction (PCR) in 93 lavaggi broncoalveolari, prelevati da neonati con sindrome di distress polmonare e sottoposti a ventilazione forzata. Tra gli esaminati 6 soggetti, nati alla ventottesima settimana di gestazione e con un peso di 880 grammi, erano positivi per *Ureaplasma urealyticum*. Ciascun bambino era colonizzato con il biovar 1 o biovar 2 o entrambi. In tutti si riscontrava un incremento significativo del valore di Interleukina 10 (IL), IL 6 ed IL 8. Questi dati richiamano l'attenzione sul ruolo di *U. urealyticum* nello sviluppo di infezioni polmonari in soggetti prematuri e di basso peso.

Sheffield JS, Ramin SM.

Tetanus in pregnancy. *Am J Perinatol.* 2004 May;21(4):173-82.

Il tetano è causa di morbilità e mortalità materna e neonatale nei paesi sottosviluppati.

La gravità delle infezioni è dovuta all'attività di due tossine prodotte da *Clostridium tetani*, un bacillo anaerobio e gram positivo. Il tetano colpisce i neuroni ed in particolare le giunzioni sinaptiche dei neurotrasmettitori provocando spasmi e grave compromissione delle funzioni respiratorie.

Gli interventi più efficaci sono:

- a. neutralizzazione della tossina
- b. terapia antibiotica e cure intensive.

Gli autori sottolineano che il tetano è un'infezione prevenibile e l'applicazione di una politica adeguata di prevenzione primaria e secondaria ridurrebbe sicuramente la sua incidenza.

Kaufman D, Fairchild KD.

Clinical microbiology of bacterial and fungal sepsis in very-low-birth-weight infants *Clin Microbiol Rev.* 2004;17(3):638-80

Questo studio focalizza l'attenzione sul tema delle infezioni che colpiscono i neonati pretermine e di basso peso (< 1500 gr). La prevalenza delle infezioni si aggira attualmente intorno al valore del 20%, tuttavia si potrebbe ridurre l'incidenza applicando le seguenti strategie:

1. Immunizzazione attiva e passiva.
2. applicazione terapeutica empirica, prima dell'insorgenza dei sintomi, nei casi di sospetta infezione.
3. diagnosi microbiologica con tecniche di biologia molecolare quando il sospetto clinico non è confermato dalla coltura.
4. applicazione di misure di prevenzione e controllo alle unità di terapia intensiva neonatale, in particolare a quelle ad alto rischio.

Raynes-Greenow CH, Roberts CL, Bell JC, Peat B, Gilbert GL.

Antibiotics for ureaplasma in the vagina in pregnancy. *Cochrane Database Syst Rev.* 2004(1):CD003767.

Le infezioni genitali da *Ureaplasmi* sono ritenute causa di rottura prematura delle membrane (PROM) e parto pretermine. Gli autori di questo articolo hanno eseguito una revisione della letteratura per verificare se il trattamento antibiotico applicato alla gravida con infezioni genitali da *Ureaplasmi* è un mezzo per ridurre i parti pretermine, le

infezioni materne e quelle neonatali. Sono stati analizzati i trials randomizzati e controllati che comparavano gli effetti del trattamento antibiotico con il trattamento placebo applicato a gravide infette da *Ureaplasmi*. Tre revisori indipendenti hanno selezionato gli studi e da uno di essi, eseguito su 1071 soggetti di cui 644 trattati con Eritrocita o Clindamicina e 427 trattati con placebo, emerge che:

1. non c'è differenza statisticamente significativa di parti pretermine tra i soggetti trattati e non trattati (rischio relativo (RR) pari a 0,70 ed intervallo di confidenza (CI) pari a 95%, 0,46-1,07) e pertanto non c'è evidenza per supportare l'uso di terapia antibiotica come mezzo di prevenzione dei parti pretermine.

Meijer A, Brandenburg A, de Vries J, Beentjes J, Roholl P, Dercksen D.

Chlamydia abortus infection in a pregnant woman associated with indirect contact with infected goats.

Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2004 Jun;23(6):487-90. Epub 2004 May 13.

Gli autori descrivono un caso clinico riferito ad una giovane donna in gravidanza che ha sviluppato un parto emorragico pretermine causato da infezione dovuta a *Chlamydia abortus*. La gravida è stata sottoposta a trattamento con doxiciclina. Da un'attenta anamnesi della paziente è emerso che era stata a contatto con capre infette ed in seguito ad indagini sierologiche sui lavoratori si osservava che la prevalenza di pregressa infezione era elevata. Questo caso di zoonosi induce a riflettere sull'opportunità di adottare una strategia di informazione e sorveglianza per la tutela delle gravide che vivono in paesi rurali.

Kenion S, Brocklehurst P, Blackburn A, Taylor DJ.

Antenatal screening and intrapartum management of Group B Streptococcus in the UK.

BJOG, March 2004;111(3): 226

Lo studio riferisce i risultati di un'osservazione eseguita, attraverso questionari, per valutare il comportamento delle divisioni di ginecologia in UK, relativamente allo screening dello Streptococco di gruppo B e profilassi intrapartum delle pazienti colonizzate. Sono stati sottoposti ad osservazione gli anni 1999 e 2001 e ciò che ne è emerso è, da un lato una scarsa aderenza al protocollo di sorveglianza per SGB e dall'altro, invece, un largo uso del trattamento antibiotico a scopo di profilassi, così come si può osservare dai dati riferiti:

1. nel 1999 è stato compilato l'84% dei questionari e da essi risulta che lo screening veniva eseguito solo dal 3% delle divisioni, mentre la profilassi antibiotica intrapartum era somministrata all'85% delle partorienti che avevano già avuto un neonato infetto da SGB. Il dosaggio farmacologico raccomandato era rispettato solo nel 7% dei casi.
2. nel 2001 è stato compilato l'82% dei questionari da cui risulta che solo il 2% eseguiva lo screening per il controllo di Streptococco di gruppo B da tampone vaginale, nelle gravide, mentre la profilassi veniva eseguita nel 95% dei soggetti con positività neonatale precedente. Il dosaggio raccomandato era applicato solo per il 20% dei casi.

Trjibels – Smeulders MAJ, Kolle LA, Adriaanse AH, Kimpfen JLL, Gerard LJ.

Neonatal group B streptococcal infection: incidence and strategies for prevention in Europe.

The Pediatric Infectious Disease Journal, February 2004, 23(2):172-173

In Europa sono stati raccolti nel 1999, attraverso un questionario, i dati relativi alla colonizzazione materna da SGB. La ricerca è stata eseguita con il contributo della società europea di malattie infettive e dei delegati europei dell'area di medicina perinatale. Sono stati compilati solo 55 questionari poiché alcune nazioni non hanno partecipato. Dai dati elaborati è emerso che:

1. nell'Est Europa la colonizzazione variava dal 1,5 al 22%, l'incidenza di SGB neonatale era compresa fra 0,2-4/1000 nati vivi

2. nella zona ovest il tasso di colonizzazione materna variava dal 7 al 30%, l'incidenza neonatale dal valore di 0,3 al 2/1000 nati vivi.

3. la zona sud aveva valori compresi fra 2,3 - 18,5% per le madri colonizzate, mentre 0,76 - 2/1000 era il valore d'incidenza nei neonati.

Le linee guida di prevenzione erano disponibili solo in 4 paesi. I dati dello studio mettono in risalto la necessità di rendere più attiva la sorveglianza per lo Streptococco beta emolitico di gruppo B, nelle gravide e neonati.

Daley AJ, Isaacs D; Australasian Study Group for Neonatal Infections.

Ten-year study on the effect of intrapartum antibiotic prophylaxis on early onset group B streptococcal and Escherichia coli neonatal sepsis in Australasia.

Pediatr Infect Dis J. 2004 Jul;23(7):630-4.

Gli autori descrivono, in questo lavoro, i risultati di studio sull'incidenza di infezioni "early onset" in Australia. Sono stati osservati 298.319 neonati d'età inferiore a 48 ore.

L'osservazione si è svolta dal 1992 al 2001 in ospedali ginecologici Australiani ed alcuni centri selezionati della Nuova Zelanda. Durante questo periodo di tempo i casi d'infezioni da SGB erano pari a 206 e quelle da E.coli pari a 96. Il tasso di sepsi causato da Streptococco beta emolitico di gruppo B (SGB) variava dal valore di 1,43/1000 nati vivi al valore di 0,25/1000 nati vivi del 2001 (P< 0,001).

Il numero d'infezioni da E.coli era pari a 0,32/1000 nati vivi per i soggetti normopeso e pari al valore di 6,20/1000 nati vivi per quelli di peso inferiore a 1500 gr.

L'incidenza d'infezioni da E. coli nei neonati di basso peso si mantiene costante ed è causa di alta mortalità (50% dei soggetti infetti), invece la significativa riduzione del numero d'infezioni da SGB, dimostrata da questa ampia casistica, è attribuibile all'utilizzo di profilassi antibiotica intrapartum.

Kiss H, Petricevic L, Husslein P.

Prospective randomised controlled trial of an infection screening programme to reduce the rate of preterm delivery.

BMJ. 2004 Aug 14;329(7462):371. Epub 2004 Aug 04.

Le infezioni vaginali ed in particolare la vaginosi batterica sono associate con parto pretermine.

Questo studio randomizzato e controllato dimostra che l'applicazione di una strategia di screening per la sorveglianza delle infezioni vaginali in gravidanza può ridurre in numero di parti pretermine. Lo studio è stato eseguito su 4429 donne gravide che durante la visita di controllo al secondo trimestre di gravidanza sono state sottoposte ad uno screening eseguito con: prelievo di secrezione vaginale, allestimento di un preparato colorato al Gram, valutazione microscopica. I soggetti sono stati divisi in due gruppi, il primo composto da 2058 gravide, nell'ambito del quale i soggetti positivi allo screening sono stati sottoposti a terapia antibiotica, l'altro formato da 2097 donne gravide ed identificato come gruppo di controllo. Dall'analisi dei risul-

tati ottenuti con lo studio è risultato un numero di parti pretermine significativamente ($P = 0,0001$) più basso nel gruppo sottoposto a screening e trattamento terapeutico dei soggetti positivi, rispetto al gruppo di controllo (3.0% verso 5,3%).

INFEZIONI SESSUALMENTE TRASMISIBILI

a cura del COMITATO DI STUDIO AMCLI DELLE INFEZIONI SESSUALMENTE TRASMESSE (CoSIST) a cura Anna Cali

Nieuwenhuis RF, Ossewaarde JM, Gotz HM, Dees J, Thio HB, Thomeer MG, den Hollander JC, Neumann MH, van der Meijden WL.-Resurgence of Lymphogranuloma Venereum in Western Europe: An Outbreak of *Chlamydia trachomatis* Serovar L2 Proctitis in The Netherlands among Men Who Have Sex with Men.-*Clin Infect Dis.* 2004 Oct 1;39(7):996-1003. Epub 2004 Sep 08.

Il linfogranuloma venereo (LGV) è una malattia a trasmissione sessuale piuttosto rara nel mondo occidentale; gli autori, dopo il riscontro, di 3 casi attivi di LGV proctite in omosessuali maschi afferenti all'Erasmus Medical Center di Rotterdam, hanno voluto indagare per un possibile outbreak in questa particolare fascia di popolazione (MSM. maschi che fanno sesso con maschi).

*Su 15 soggetti sono stati determinati il titolo anticorpale e la ricerca, con reazione polimerasica a catena (PCR), di *Chlamydia trachomatis* nelle urine e nel campione dal retto; i campioni positivi sono stati genotipizzati per determinare gli specifici serovars.*

Tutti i pazienti sono stati inoltre sottoposti agli screening routinari per STD e valutati per le caratteristiche sociodemografiche, cliniche ed endoscopiche.

*Risultati: 13 pz con un elevato titolo di IgG e IgA, indice di infezione invasiva; tutti i campioni di urine negativi; 12 campioni rettali positivi per *Chlamydia trachomatis*, 8 serovar L(2) ed 1 L(1); in tutti i soggetti era riscontrata una proctite ulcerativa.*

Gli autori, documentando un outbreak di LGV proctite tra gli MSM in Olanda, suggeriscono che da un punto di vista di sanità pubblica è importante incrementare l'attenzione per una possibile LGV nei MSM con proctite sintomatica.

Haggerty CL, Hillier SL, Bass DC, Ness RB; the PID Evaluation and Clinical Health (PEACH) Study Investigators.-Bacterial vaginosis and anaerobic bacteria are associated with endometritis. - *Clin Infect Dis.* 2004 Oct 1;39(7):990-5. Epub 2004 Sep 02.

*In questo studio sono state investigate le associazioni di *N. gonorrhoeae*, *C. trachomatis*, vaginosi batterica, batteri anaerobi e facoltativi, e lattobacilli con l'endometrite tra 278 donne già valutate con istologia endometriale completa ed esame culturale.*

*Le donne con endometrite acuta avevano minore probabilità di presentare specie di Lactobacilli produttori di H(2) O(2) mentre avevano maggiore probabilità di essere infette con *C. trachomatis* (OR, 16.2; 95% CI, 4.6-56.6), *N. gonorrhoeae* (OR, 11.6; 95% CI, 4.5-29.9), diphtheroids (OR, 5.0; 95% CI, 2.1-12.2), black-pigmented gram-negative rods (OR, 3.1; 95% CI, 1.4-7.0), e cocchi gram-positivi*

anaerobi (OR, 2.1; 95% CI, 1.0-4.3) e di avere una vaginosi batterica (OR, 2.4; 95% CI, 1.3-4.3).

Poiché risulta che i microrganismi associati a vaginosi batterica erano frequenti tra le donne con PID, quindi strettamente associati con l'endometrite, gli autori raccomandano di trattare tutte le donne con PID con regimi terapeutici che includono il metronidazolo.

Currie MJ, McNiven M, Yee T, Schiemer U, Bowden FJ.-Pooling of Clinical Specimens Prior to Testing for *Chlamydia trachomatis* by PCR Is Accurate and Cost Saving.-

J Clin Microbiol. 2004 Oct;42(10):4866-7.

*Vengono valutate l'accuratezza e la riduzione dei costi che si può ottenere facendo un pool di campioni prima di eseguire i test per *C. trachomatis* con PCR. Con 2800 campioni urinari e genitali si realizza una riduzione del 60% dei test, senza una significativa minore accuratezza.*

In questo lavoro viene dimostrata per la prima volta l'efficienza di fare un pool di campioni.

Hu D, Hook EW 3rd, Goldie SJ.-Screening for *Chlamydia trachomatis* in women 15 to 29 years of age: a cost-effectiveness analysis.-*Ann Intern Med.* 2004 Oct 5;141(7):501-13.

*L'obiettivo di questo lavoro è di valutare il costo-beneficio di recenti strategie proposte per lo screening della *Chlamydia*, applicando modelli di analisi probabilistica ai dati di letteratura.*

Sono state valutate 4 diverse strategie applicate a 3 specifici gruppi di età (dai 15 ai 19 anni, dai 15 a 24, dai 15 ai 29 anni): 1) nessuno screening, 2) screening annuale per tutte le donne, 3) screening annuale seguito da un test di controllo entro 3-6 mesi, in caso di positività, 4) screening annuale seguito da un screening selettivo e semiannuale per le donne con una storia di infezione.

Gli autori concludono che quest'ultima strategia, applicata a tutte le donne dai 15 ai 29 anni, è la più efficace dal punto di vista costo-beneficio.

Hopwood J, Mallinson H, Hodgson E, Hull L.-Liquid based cytology: examination of its potential in a chlamydia screening programme.-*Sex Transm Infect.* 2004 Oct;80(5):371-3.

*In questo lavoro viene valutata la possibilità di eseguire i test per *Chlamydia* direttamente sul campione prelevato per lo screening citologico cervicale utilizzando la sospensione "PreservCyt" del ThinPrep test.*

*581 campioni, sia da tampone convenzionale che da sospensione citologica, venivano analizzati in parallelo con la ligase chain reaction (LCR), producendo 19 risultati concordanti positivi e 562 concordanti negativi; la stabilità della *Chlamydia* nel liquido di sospensione si manteneva per almeno 5 mesi.*

*Gli autori, pur rilevando alcune problematiche da approfondire, sostengono che questa procedura può costituire un'ottima base per lo screening della *Chlamydia*.*

Adams EJ, Charlett A, Edmunds WJ, Hughes G.-*Chlamydia trachomatis* in the United Kingdom: a systematic review and analysis of prevalence studies.-*Sex Transm Infect.* 2004 Oct;80(5):354-62.

*Viene condotta una sistematica revisione, tramite database elettronico, dei lavori pubblicati nel Regno Unito e in Irlanda per avere una stima della prevalenza di *Chlamydia trachomatis* nei vari gruppi di popolazione ed*

individuare i più importanti determinanti di infezione.

Su 357 studi individuati, soltanto 90 rispondevano ai criteri di inclusione e solo quelli riguardante la popolazione femminile, in quanto erano disponibili solo pochi dati di prevalenza sui maschi. Delle 9 variabili individuate come potenzialmente determinanti sulla prevalenza, risultano più significative l'età e il setting della popolazione testata, mentre non sembrano essere strettamente associate alla prevalenza né il tipo di test, né il campione usato.

Questa revisione, pur evidenziando molta eterogeneità negli studi identificati e la mancanza di dati per certi sottogruppi, quali i maschi e la popolazione generale, permette di concludere che la stima della prevalenza basata sull'età e il setting può costituire una buona base per progettare le strategie di screening.

Hwang L, Shafer MA.-Chlamydia trachomatis infection in adolescents.-Adv Pediatr. 2004;51:379-407.

Le infezioni da Chlamydia trachomatis risultano epidemiche tra le giovani donne sessualmente attive e le mette a rischio di morbilità dell'apparato riproduttivo per tutta la vita, inclusi infertilità tubarica e dolore pelvico cronico. Invece non sono state ancora determinate la loro prevalenza e importanza tra gli adolescenti e i giovani adulti maschi sessualmente attivi. Di recente è stata descritta una relazione sinergica tra rischio di STI ed infezione di HIV; ma è necessario che siano condotti studi randomizzati e controllati per definire ulteriormente questa relazione; né è stato valutato il rapporto costo-beneficio di programmi di screening e trattamento di gruppi di popolazione che differiscono per prevalenza, età, genere e rischio per infezione da HIV.

La ricerca si sta attivamente dedicando allo sviluppo di un efficace vaccino che, in teoria, dovrebbe essere somministrato in età prepuberale, prima dell'inizio dell'attività sessuale.

Falk L, Fredlund H, Jensen JS.-Symptomatic urethritis is more prevalent in men infected with Mycoplasma genitalium than with Chlamydia trachomatis.-Sex Transm Infect. 2004 Aug;80(4):289-93.

Obiettivo: studiare la prevalenza, i sintomi e i segni di infezione da Mycoplasma genitalium e Chlamydia trachomatis negli uomini afferenti ad una clinica per STD svedese ed individuare i criteri per l'uretrite.

Metodo: i pz erano sottoposti ad esame microscopico per uretrite e le urine del primo mitto venivano saggiate per M. genitalium e C trachomatis.

Dai risultati dello studio si evince che il M. genitalium è un' infezione comune associata all'uretrite sintomatica e con un'alta prevalenza di partner sessuali infetti, ben supportando il ruolo di questo microrganismo come agente di infezione sessualmente trasmessa.

Veznik Z, Pospisil L, Svecova D, Zajicova A, Unzeitig V.-Chlamydiae in the ejaculate: their influence on the quality and morphology of sperm.-Acta Obstet Gynecol Scand. 2004 Jul;83(7):656-60.

Vista la mancanza di informazioni sul ruolo della Chlamydia su fertilità maschile, lo scopo dello studio era quello di accertare ed analizzare la qualità del liquido seminale nei campioni positivi e negativi per Chlamydia.

Su un totale di 627 campioni, 136 (21.7%) risultavano positivi per Chlamydia e l'analisi dell'eiaculato mostrava significative differenze tra i positivi e i negativi. Il gruppo contaminato mostrava una morfologia normale degli sper-

matozi il 14.4% più bassa, volume inferiore del 6,4% concentrazione, motilità e velocità, rispettivamente 8,3%, 7,8%, 9,3% inferiori ai campioni negativi. Questi dati potrebbero aiutare a capire il ruolo della Chlamydia nella patologia seminale e nell'infertilità maschile.

Taylor-Robinson D, McCaffrey M, Pitkin J, Lamont RF.-Bacterial vaginosis in climacteric and menopausal women.-Int. J STD AIDS: 2002 Jul; 13(7):449-52

L'obiettivo dello studio era di determinare con quale frequenza il microbiota vaginale risultava anormale tra le donne afferenti ad una clinica per la menopausa e se tale anomalia potesse essere correlata a un particolare fattore di rischio.

Su 100 donne esaminate, all'esame al Gram delle secrezioni vaginali, 44 mostravano grado I di flora batterica (normale), 17 grado 2 (intermedia) e 18 grado 3 (vaginosi batterica BV), in 21 non era possibile determinarne il grado per assenza di batteri.

Le donne con BV avevano avuto più partner sessuali delle altre, ma non è stato possibile individuare altri fattori di rischio associati con BV:

Possiamo condividere le conclusioni di questo lavoro o vanno valutate criticamente?

Reid G, Burton J, Hammond JA, Bruce AWW.-Nucleic acid-based diagnosis of bacterial vaginosis and improved management using probiotic lactobacilli.-J Med Food. 2004 Summer;7(2):223-8

La vaginosi batterica (BV), affezione comune tra le donne, si presenta con un'alterazione del microbiota vaginale, deplezione dei lattobacilli e una sovracrescita di batteri anaerobi gram-neg. La diagnosi viene fatta con una serie di test o con il Gram su un vetrino vaginale; il trattamento con antibiotici è normalmente efficace, ma le ricadute sono frequenti. Lo studio, condotto su 55 campioni vaginali da 11 donne in postmenopausa mostrava la presenza di BV al Gram secondo lo score di Nugent e la reazione polimerasica a catena (PCR) evidenziava che specie di Bacteroides e Prevotella erano gli isolati più frequenti; in 1 solo caso la Gardnerella vaginalis veniva isolata da sola. Questi riscontri mostrano che la BV rimane comune tra donne altrimenti in buona salute, ma che non è causata solo da Gardnerella o Mobiluncus, e che le metodiche basate sugli acidi nucleici sono efficaci per individuarne i microrganismi responsabili. Un trial randomizzato e controllato contro placebo mostrava la ricostituzione del microbiota normale solo nei soggetti con BV, a seguito di assunzione orale quotidiana per 2 mesi di Lactobacillus rhamnosus GR-1 e Lactobacillus fermentum RC-14, ma non nei controlli. Gli autori concludono auspicando la disponibilità commerciale di kit self-use, perché le donne possano controllarsi e assumere con la dieta prodotti clinicamente provati, come i probiotici sopra citati.

MICOBATTERI

a cura di FERRUCCIO MANDLER

Scarpellini P, Tasca S, Galli L, Beretta A, Lazzarin A, Fortis C.-Selected pool of peptides from ESAT-6 and CFP-10 proteins for detection of Mycobacterium tuberculosis infection.-J Clin Microb 2004;42(8):3469-3474
Riportiamo dalla introduzione del lavoro degli AA del S.

Raffaele di Milano: recentemente due proteine secretorie a bassa massa molecolare, di precoce secrezione antigenica target 6 (ESAT-6) una proteina da filtrato di coltura (CFP-10) sono state identificate ed i corrispondenti geni codificati. Ambedue le proteine sono presenti nella regione genomica RD-1 del Mt complex, assenti nei ceppi vaccinali BCG e nei micobatteri ambientali *M. kansasii*, *marinum*, *szulgai*, *flavescens*, *gastrii*. Ambedue le proteine producono una forte risposta T cellulare nei soggetti con TB e sono valutate per il rilevamento della TB iniziale o attiva o di infezioni subcliniche. Peptidi sintetici corrispondenti alla completa lunghezza di ciascuna proteina sono stati recentemente sintetizzati ed impiegati come peptidi singoli o come pool. Sono stati efficienti in modo simile all'impiego della intera proteina nel produrre la risposta alle cellule T nei soggetti TB e permettono la discriminazione fra soggetti vaccinati ed ammalati. Pertanto ne risulta che fra le diverse tecniche che valutano la risposta delle cellule T, sia in vivo (test tubercolinico) o in vitro (saggio di linfoprolifera-zione-LPA) il saggio enzimatico di ELISPOT saggio che rivela l'IFN gamma è il più sensibile. Tuttavia l'elevato numero di peptidi necessari rende questo saggio troppo complesso limitando l'applicazione. Gli AA del lavoro hanno selezionato 5 peptidi immunogeni e largamente ristretti HLA-DR,3 derivati da ESAT-6 e 2 da CPP-proteine quindi hanno testato questi in un saggio ELISPOT per valutare il numero di specifiche cellule T secernenti IFN-gamma o in un LPA. La ricerca è stata condotta su 68 casi sia HIV+ che HIV-

Riportiamo dalla conclusione del lavoro: l'associazione di IFNgamma ELISPOT con il pool di peptidi micobatterici è risultata molto sensibile e specifica. Da notare che in 4 casi con molto basso numero di CD4+ T linfociti circolanti, HIV, hanno risposto al pool peptidico. Nonostante tale risposta non si può raggiungere la certezza che queste persone siano state infettate. È stata documentata la validità dei tests nei casi di soggetti vaccinati con BCG. Nello studio compiuto una differenza fra HIV+ e HIV- è stata documentata in merito a risposta a IFNgamma e pool peptidico (PS: il lavoro non è entrato in merito all'altro importante aspetto di questa valutazione: l'aspetto prognostico del test nei casi clinicamente silenti)

Di Perri G, Bonora S-Which agents should we use for the treatment of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*-Antimicrob Chemother 2004;54(3):593-602
Revisione della farmacologia dei farmaci antib di seconda linea. I fluorochinoloni rappresentano l'unico reale progresso terapeutico degli ultimi 20 anni

Nuermberger EL, Yoshimatsu T, Tyagi S, O'Brien RJ, Vernon AN, Chaisson RE, Bishai WR, Grosset JH-Moxifloxacin-containing regimen greatly reduces time to culture conversion in murine tuberculosis-Am J Respir Crit Care Med 2004;169(3):421-426

Un nuovo farmaco che migliora l'azione sterilizzante dei regimi terapeutici attuali senza sacrificare l'efficacia e rinforzante il completamento terapeutico è auspicabile.

Il nuovo fluorochinolone 8 metossi fluorochinolone ha una potente attività sui micobatteri che si moltiplicano e su quelli che non si moltiplicano. Lavorando su un modello sperimentale di topini gli AA hanno dimostrato che la combinazione di moxifloxacina, rifampicina e pirazinamide riduce il tempo di eradicare il Mt dai polmoni entro 2 mesi e inferiore a quello che si ottiene con la terapia standard di iso-

niazide, rifampicina e pirazinamide. Il regime è pertanto in grado di accorciare la durata della terapia. Lavoro firmato da AA della John Hopkins University di Boston e da Grosset che sul tema sperimentale con questa tecnica ha lavorato per moltissimi anni a Parigi

Piersimoni G, Goteri G, Nista D, Mariottini A, Mazzarelli G, Bornigia S-*Mycobacterium lentiflavum* as an emerging causative agent of cervical lymphadenitis-J Clin Microb 2004;42(8):3894-3897

È stata eseguito un prelievo in una donna di 45 anni con linfadenite cervicale sinistra. La patologia si era sviluppata dopo chirurgia orale per una severa malattia periodontale insensibile alla chemioterapia antimicrobica. Il ceppo micobatterico è stato identificato con cromatografia high performance ed analisi acidi micolici cellulari. Questo caso assieme ad altri osservati richiama l'attenzione su questo ceppo come responsabile di linfadeniti. L'escissione ghiandola viene sconsigliata e la chemioterapia con claritromicina o azitromicina con rifampicina o rifabutina viene consigliata. La durata della terapia è sconosciuta

Brock I, Weldingh K, Lillebaek T, Follmann F, Andersen P-Comparison of tuberculin skin test and new specific blood test in tuberculous contacts-Am Respir Crit Care Med 2004;170(1):5-6-Am J Respir Crit Care Med 2004;170(1):65-69

Lavoro proveniente dallo Statens Serum Institut di Copenhagen. Gli AA hanno integrato il test QuantiFERON ematico con ESAT-6 e CFP-10. Hanno valutato questo in una scuola danese per valutare i contatti dopo un episodio di TB nella scuola. La maggior parte dei contatti non erano casi vaccinati il che ha permesso un paragone diretto fra il test Quantiferon e quello cutaneo. È stata trovata una eccellente correlazione fra i due tests ed in contrasto al test ematico eseguito con PPD questo non è stato influenzato dalla vaccinazione eseguita dai soggetti indagati

Hiraki A e 6 coll-Confronto fra sei marcatori biologici nella diagnosi di pleurite tubercolare-Chest Edizione Italiana 2004;6(2):17-19

Lavoro di AA giapponesi. I ricercatori hanno confrontato i marcatori per differenziare i versamenti pleurici tubercolari da quelli non tubercolari. Hanno preso in considerazione i livelli di adenosina deaminasi, interferone(IFN)- γ , interleuchina(IL)-12p40, IL-18, proteina acida immuno-soppressiva e recettore solubile per IL-2 successivamente sottoposti ad un'analisi ROC (Receiver operative characteristics)

Conclusione: la determinazione dei livelli di IFN- γ è risultata essere la più significativa per la diagnosi di pleurite tubercolare (PS: a nostro avviso l'interesse del lavoro si evidenzia dalla decisa conclusione degli AA che sottolineano che il livello dovrebbe essere misurato routinariamente anche se presenta un costo relativamente alto in rapporto all'analisi dell'ADA. La letteratura sul tema è enorme ma conclusioni definite come quelle presentate nel lavoro sono rare)

PARVOVIRUS B19

a cura di MANUELA PEGORARO

Corcoran A, Doyle S. Advances in the biology, diagnosis and host-pathogen interactions of parvovirus B19.

Journal of Medical Microbiology 2004; 53: 459-75

Il lavoro presenta in maniera molto chiara i vari aspetti delle infezioni sostenute da questo piccolo virus a DNA, privo di involucro lipoproteico e praticamente ubiquitario, nei diversi contesti clinici: donne in gravidanza (viene riportata una percentuale di sieronegatività pari al 30-40% tra le donne in età fertile); soggetti immunocompromessi (nei quali l'infezione può assumere un andamento cronico con persistente depressione dell'attività eritropoietica midollare); pazienti con anemie emolitiche ereditarie nei quali l'infezione da parvovirus B19 esita spesso in crisi aplastiche. Viene anche affrontata la problematica delle infezioni iatrogene legate alla contaminazione di plasma e di altri emoderivati (in particolare i concentrati di fattore VIII e IX) da parte di questo agente virale particolarmente resistente ai vari processi di decontaminazione. Molto utili ai fini interpretativi risultano, infine, le indicazioni circa l'andamento della risposta anticorpale nei confronti di epitopi lineari e conformazionali delle due proteine capsidiche, antigeni che sono poi variamente rappresentati nei sistemi diagnostici disponibili in commercio.

The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. Emea Workshop on viral safety of plasma-derived medicinal products with particular focus on non-enveloped viruses. 2001

Il documento, redatto in occasione dell'ultimo workshop dell'EMA (European Agency for the Evaluation of Medicinal Products) tenutosi nel settembre 2000, riporta lo "stato dell'arte", gli obiettivi e le raccomandazioni per aumentare il livello di sicurezza degli emoderivati nei confronti soprattutto di agenti virali come HAV e parvovirus B19 che, privi di involucro lipoproteico, sono particolarmente resistenti ai trattamenti di decontaminazione dimostratisi efficaci per HBV, HCV e HIV. Sebbene l'acquisizione dell'infezione da parvovirus B19 attraverso il plasma e i fattori della coagulazione non sembri rivestire un significato clinico particolarmente rilevante, dato il carattere sostanzialmente autolimitante dell'infezione, ci sono tuttavia gruppi di pazienti nei quali il decorso può essere particolarmente grave, al di là del fatto che, per quanto possibile, debba comunque essere evitata la diffusione iatrogena di un'agente infettivo. Parvovirus B19 è resistente ai trattamenti con detergenti, ai trattamenti al calore e, date le piccole dimensioni, anche ai trattamenti di filtrazione, per cui, a tutt'oggi, non esiste, per questo virus, un procedimento di decontaminazione di sicura efficacia. Un approccio è allora quello di individuare (tramite tecniche molecolari) ed eliminare quelle donazioni che presentano un carico virale superiore ad un livello soglia correlato ad un elevato rischio di trasmissione dell'infezione; altra possibilità è quella di utilizzare, per i gruppi di pazienti a rischio, esclusivamente prodotti derivati da donatori sieropositivi, tenendo conto del fatto che la necessità di garantire la sicurezza di questi prodotti si accompagna a quella di garantirne una produzione sufficiente al fabbisogno.

Schmidt I, Blumel J, Seitz H et al. Parvovirus B19 DNA in plasma pools and plasma derivatives. Vox Sanguinis 2001; 81:228-253

Gli Autori riportano le percentuali ed il livello di contaminazione da parvovirus B19 in pools utilizzati per la produzione di plasma e di altri emoderivati nel periodo '96-'00.

Dallo studio, basato su indagini molecolari qualitative e

quantitative, sono emersi livelli di B19 DNA variabili tra 10^3 - 10^7 geq/ml nel 23% dei pools di plasma (livelli rimasti sostanzialmente invariati dopo gli usuali trattamenti di decontaminazione) e nel 60% di quei pools destinati alla produzione di emoderivati, con carichi virali superiori a 10^6 geq/ml nel 35% dei casi. Carichi virali particolarmente elevati si riscontrano soprattutto nei concentrati di protrombina e di Fattori VIII e IX. Sebbene la presenza di genoma virale non implichi necessariamente la presenza di virioni infettanti (elemento peraltro di difficile valutazione data la mancanza di substrati cellulari idonei per l'isolamento colturale), gli Autori concludono sottolineando la necessità di proteggere da tale infezione almeno i gruppi di pazienti a rischio di complicanze gravi e di sviluppare tecniche di decontaminazione più efficaci.

Nunque T, Kusuhara K and Hara T. Human fetal infection with parvovirus B19: maternal infection time in gestation, viral persistence and fetal prognosis. The pediatric infectious disease journal 2002; 21 (12): 1133-36

Sulla base di un'analisi retrospettiva di 13 casi di infezione materno-fetale da parvovirus B19 gli Autori correlano l'esito della gravidanza con l'epoca gestazionale di infezione materna. Su 13 feti infetti (rilevazione del genoma virale nel liquido amniotico e nel sangue fetale), 3 svilupparono un quadro di idrope, in un caso ci fu l'interruzione spontanea della gravidanza senza idrope fetale, in un quinto caso un grave ritardo di crescita intrauterina. Negli altri 8 casi l'infezione fu asintomatica. In tutti i casi di morte fetale l'infezione era stata contratta prima della ventesima settimana di gestazione, supportando così osservazioni precedenti che indicavano nel secondo trimestre il periodo di massimo rischio per il feto.

VIROLOGIA

a cura di **GIGLIOLA FLAMMINIO**

Sebire NJ, Malone M, Shan N, Anderson G, Gaspar HB, Cubitt WD. Pathology of astrovirus associated diarrhoea in a paediatric bone marrow transplant recipient. J Clin Pathol. 2004 Sep;57(9):1001-3.

L'infezione da astrovirus spesso causa episodi diarroici autolimitanti, ma possono colpire pazienti che sono immunocompromessi o immunodeficienti. Sebbene siano presenti diversi studi sui vari aspetti degli astrovirus, sono poche le conoscenze sui meccanismi istopatologici delle infezioni gastrointestinali umane causate da questo patogeno. In questo studio viene analizzato, sia dal punto di vista istochimico che con microscopia elettronica, un caso di infezione da astrovirus con diarrea in un bambino di quattro anni sottoposto a trapianto di midollo. La biopsia intestinale presentava villi smussati, con una irregolarità della superficie delle cellule epiteliali ed un aumento di densità delle cellule infiammatorie della lamina propria. Metodiche immunocitochimiche utilizzando un anticorpo monoclonale murino hanno dimostrato delle irregolarità diffuse in tutto l'intestino sebbene più marcato alla fine dei villi. Con il microscopio elettronico apparivano chiare le particelle virali nel citoplasma degli enterociti.

Rao BL, Basu A, Wairagkar NS, Gore MM, Arankalle VA,

Thakare JP, Jadhav RS, Rao KA, Mishra AC. A large outbreak of acute encephalitis with high fatality rate in children in Andhra Pradesh, India, in 2003, associated with Chandipura virus. *Lancet*. 2004 Sep 4;364(9437):821-2. Un'epidemia di encefalite acuta ad eziologia sconosciuta ha determinato nei bambini di uno stato del sud dell'India (Andhra Pradesh) nel 2003 un'alta mortalità (183 di 329). Per isolare l'agente virale dai campioni clinici sono state eseguite co-culture tra linfociti prelevati dal sangue periferico e linee cellulari. L'identificazione dell'agente virale è stata evidenziata sia con microscopia elettronica che indagini sierologiche e molecolari. I campioni clinici risultavano negativi per anticorpi IgM verso il virus dell'encefalite giapponese, il West Nile, il Dengue, del morbillo e per RNA dei Coronavirus, Paramyxovirus, Enterovirus e Influenza. Il virus isolato da sei pazienti con encefalite è stato identificato come Chandipura virus. Il RNA del Chandipura virus è stato evidenziato nei campioni clinici di nove pazienti; questo ceppo virale ha mostrato il 96.7-97.5% di omologia con il ceppo referente del 1965. L'antigene virale ed il RNA sono stati identificati anche nel tessuto cerebrale di bambini deceduti mediante test di immunofluorescenza e PCR. In alcuni sieri di pazienti sono stati trovati anticorpi IgG ed IgM neutralizzanti e la maggiore positività di IgM nel siero appariva evidente in quarta giornata dopo l'insorgenza dell'encefalite. Siamo di fronte ad un nuovo patogeno emergente?

Pankuweit S, Lamparter S, Funck R, Maisch B. Endomyocardial biopsy-guided diagnosis and treatment of inflammatory cardiomyopathies. *Dtsch Med Wochenschr*. 2004 Oct 8;129(41):2169-72. Più del 50% di cardiomiopatie infiammatorie sono causate da infezioni batteriche o virali tra cui Parvovirus B19, Coxsackie B o Adenovirus. A livello patogenetico si riconoscono due fasi: una prima in cui si sviluppa l'infezione con danneggiamento del miocardio ed una seconda in cui il ruolo principale lo hanno il sistema immunitario ed antivirale dell'individuo. In questo studio si analizza un caso clinico di un uomo di 24 anni (altezza 175 cm, peso 88 kg) che presentava ricorrenti episodi dispnoici. Questi spesso erano accompagnati da debolezza, astenia e vertigini nei sei mesi precedenti. All'esame ecocardiografico risultava una notevole riduzione della contrattilità ventricolare con una frazione di eiezione del 30%. Fu decisa una biopsia del miocardio e fu identificata una virosi da Parvovirus B19. La terapia si basò sulla immunoprofilassi passiva ripetuta due volte a giorni alterni. Dopo tre anni anche a livello clinico fu evidente il miglioramento (frazione di eiezione salita al 40%). Il caso presentato in questo studio dimostra come senza una biopsia miocardica sarebbe stato impossibile stabilire la cardiomiopatia infiammatoria da Parvovirus B19.

SARS - CITOMEGALOVIRUS - EPATITI-

a cura di VALERIA GHISETTI

Comar M, D'Agaro P, Andolina M, Maximova N, Martini F, Tognon M, Campello C. Hemorrhagic cystitis in children undergoing bone marrow transplantation: a putative role for simian virus 40. *Transplantation*. 2004 Aug

27;78(4):544-8.

La cistite emorragica (CE) è una grave complicanza del trapianto allogenico di midollo (BMT), generalmente associata sia alla graft-versus-host disease sia all'infezione da virus BK o da Adenovirus. Gli Autori ricercano sequenze virali del virus del poliovirus SV40 in campioni di leucociti del sangue periferico e di urine (sedimento e surnatante) di 28 pazienti pediatrici sottoposti a BMT di cui 7 con diagnosi clinica di CE. Sequenze di SV40 sono state rinvenute nei campioni di sangue ed urine di 2 pazienti e la loro identificazione è stata confermata mediante analisi di sequenza e ibridizzazione con sonde specifiche per SV40. Gli Autori concludono che anche il virus del poliovirus SV40 può essere la causa di CE post-BMT.

Talamini R, Montella M, Crovatto M, Dal Maso L, Crispo A, Negri E, Spina M, Pinto A, Carbone A, Franceschi S. Non-Hodgkin's lymphoma and hepatitis C virus: a case-control study from northern and southern Italy. *Int J Cancer*. 2004 Jun 20;110(3):380-5. Risultati di uno studio caso-controllo ospedaliero (225 casi e 504 controlli) sull'associazione dell'infezione da virus epatici B (HBV) e C (HCV) e linfomi non Hodgkin (NHL). La prevalenza dell'infezione da HCV è stata del 19.6% nei casi contro il 9% nei controlli (OR= 2.6, 95% CI 1.6-4.3) ed è stata trovata una associazione significativa per una storia di epatite C (OR = 4.7, 95% CI 2.3-9.5) nei pazienti con NHL. La positività per HBsAg è stata del 3.8% nei casi contro 0.9% nei controlli (OR = 4.1, 95% CI 1.2-14.4). Gli Autori concludono che l'infezione da HCV è associata ad un rischio aumentato di NHL e che la frazione di NHL attribuibile ad HCV è stimabile del 12.4% (da 6.3 a 18.5%).

Liaw YF, Sung JJ, Chow WC, Farrell G, Lee CZ, Yuen H, Tanwandee T, Tao QM, Shue K, Keene ON, Dixon JS, Gray DF, Sabbat J; Cirrhosis Asian Lamivudine Multicentre Study Group. Lamivudine for patients with chronic hepatitis B and advanced liver disease. *N Engl J Med*. 2004 Oct 7;351(15):1521-31.

Lo studio ha l'obiettivo di definire l'efficacia della terapia con lamivudina nel prevenire la progressione del danno epatico in pazienti con cirrosi o con epatite cronica con grado di avanzato di fibrosi. In modo random 651 pazienti sono stati sottoposti (in ragione di 2 a 1) a terapia con lamivudina o a placebo e studiati per un periodo di 32.4 mesi valutando come end-point primari la progressione istologica del danno epatico e l'evoluzione tumorale. Nel gruppo in terapia con lamivudina lo score di Child-Pugh è aumentato nel 3.4% dei pazienti contro l'8.8% nel gruppo sotto placebo (p=0.02). L'incidenza di epatocarcinoma è stata del 4% nel primo gruppo e del 7,4% nel secondo (p=0.047). Mutanti YMDD si sono sviluppati nel 49% dei pazienti trattati con lamivudina. Gli Autori concludono a favore del trattamento con lamivudina nei pazienti con epatite cronica con grado avanzato di fibrosi o con cirrosi per rallentare la progressione clinica e il rischio di carcinoma epatico, anche a fronte dell'elevata induzione di mutanti farmacoresistenti.

Marcellin P, Lau GK, Bonino F, Farci P, Hadziyannis S, Jin R, Lu ZM, Piratvisuth T, Germanidis G, Yurdaydin C, Diago M, Gurel S, Lai MY, Button P, Pluck N; Peginterferon alfa-2a alone, lamivudine alone, and the

two in combination in patients with HBeAg-negative chronic hepatitis B. Peginterferon Alfa-2a HBeAg-Negative Chronic Hepatitis B Study Group. *N Engl J Med.* 2004 Sep 16;351(12):1206-17.

Lo studio confronta l'efficacia di alcuni schemi di trattamento (peginterferon alfa-2a peginterferon alfa-2a più lamivudina e lamivudina da sola) per l'infezione da virus dell'epatite B (HBV) in 537 soggetti HBeAg-negativi nei quali in genere la risposta agli schemi tradizionali è bassa e associata ad un alto tasso di farmacoresistenza. Dopo 48 settimane di terapia e 24 di follow-up la percentuale di pazienti con normalizzazione di ALT o con HBV DNA al di sotto di 20000 copie/ml era significativamente più elevata nei pazienti trattati con peginterferon alfa-2a sia in monoterapia che in combinazione con lamivudina, rispetto al gruppo trattato con sola lamivudina. I tassi di risposta sostenuta definiti da livelli di HBV DNA persistentemente inferiori a 400 copie/ml sono stati del 19% nel gruppo in monoterapia con peginterferon alfa-2°, del 20% in quello in terapia di combinazione contro il 7% in quelli trattati con solo lamivudina. La perdita di HBsAg è avvenuta solo nei pazienti trattati con peginterferon e gli eventi avversi erano significativamente meno frequenti nel gruppo trattato con sola lamivudina. Gli Autori concludono che nei pazienti con epatite cronica HBV correlata e negativi per HBeAg la percentuale di risposta sostenuta è significativamente più elevata con il trattamento basato su peginterferon rispetto a quello con lamivudina e che l'aggiunta di lamivudina non modifica sostanzialmente la percentuale di risposta protratta.

Westall GP, Michaelides A, Williams TJ, Snell GI, Kotsimbos TC Human cytomegalovirus load in plasma and bronchoalveolar lavage fluid: a longitudinal study of lung transplant recipients. *Infect Dis.* 2004 Sep 15;190(6):1076-83.

Gli Autori confrontano la presenza di CMV in campioni di plasma e di lavaggio bronco-alveolare (Bal) prelevati nello stesso paziente in una coorte di 41 trapiantati di polmone. La concordanza del dato qualitativo sul plasma e Bal nello stesso paziente è stata dell'80%. Nel 20% dei casi CMV è stato riscontrato nel Bal e non nel plasma, ma in nessun caso CMV era presente nel plasma e assente nel Bal. La presenza di inclusi è stata confermata istologicamente solo in una minoranza di pazienti dimostrando la necessità di quantizzare la quantità di DNA di CMV nel Bal per definire dei valori soglia di carica virale che corrispondano ad un danno istologicamente definito dell'infezione a livello polmonare. Solo in tal modo è possibile aumentare la sensibilità e la specificità diagnostiche della ricerca di CMV DNA su Bal e monitorare la replicazione subclinica di CMV nel tessuto polmonare.

Khaiboullina SF, Maciejewski JP, Crapnell K, Spallone PA, Dean Stock A, Pari GS, Zanjani ED, Jeor SS. Human cytomegalovirus persists in myeloid progenitors and is passed to the myeloid progeny in a latent form. *Br J Haematol.* 2004 Aug;126(3):410-7.

I meccanismi di latenza di CMV nei progenitori midollari CD34+ sono sconosciuti. A tale scopo gli Autori studiano i progenitori midollari di soggetti sieropositivi per CMV, determinando la presenza del virus mediante single colony polymerase chain reaction e fluorescent in situ hybridization (FISH). Esperimenti di infezione in vitro attestano che la presenza di CMV DNA era ristretta al gruppo di proge-

nitori della serie mieloide e che la differenziazione nelle serie eritroide risultava in una infezione abortiva con persistenza del DNA virale nel nucleo dei precursori. Sotto l'effetto di fattori di crescita per la serie granulocito-macrofagica il DNA di CMV è in grado di rimanere a lungo nei precursori con la possibilità che la capacità di proliferazione di cui sono dotate queste cellule possa anche estendere il pool di cellule patentemente infettate da CMV.

Alain S, Hantz S, Scieux C, Karras A, Mazeron MC, Szlag JC, Imbert BM, Fillet AM, Gouarin S, Mengelle C, De Wilde A, Cogne N, Champier G, Rogez S, Legendre C, Denis F. Detection of ganciclovir resistance after valacyclovir-prophylaxis in renal transplant recipients with active cytomegalovirus infection. *J Med Virol.* 2004 Aug;73(4):566-73.

Lo scopo dello studio è di documentare il fenomeno della resistenza a ganciclovir in pazienti sottoposti a trapianto di rene, con infezione da CMV e sottoposti a profilassi con valaciclovir (VCV), attraverso una indagine retrospettiva mirante ad identificare mutazioni della regione UL97. Sono stati studiati 23 pazienti che durante il trattamento con VCV o alla fine di esso hanno presentato positività al test per l'antigenemia di CMV o a quello per il DNA virale e l'analisi è stata condotta su campioni di sangue periferico mediante nested-PCR con amplificazione dell'intera sequenza di UL97. Solo un paziente ha presentato una mutazione di UL97 associata a resistenza a ganciclovir (M460I) e il principale fattore di rischio è stata la precoce e persistente comparsa dell'antigenemia. Gli Autori concludono che nonostante il fenomeno della resistenza a ganciclovir durante la profilassi con VCV sia raro, particolare attenzione va prestata ai parametri virologici per identificare precocemente i primi segnali di ripresa dell'infezione.

Goodrum F, Jordan CT, Terhune SS, High K, Shenk T. Differential outcomes of human cytomegalovirus infection in primitive hematopoietic cell subpopulations. *Blood.* 2004 Aug 1;104(3):687-95.

I reservoir di CMV nel compartimento emopoietico e i meccanismi che regolano il fenomeno della latenza/riattivazione virale sono sconosciuti. CMV infetta cellule CD34+ che esprimono un limitato subset di geni virali. Gli Autori studiando i diversi pattern di espressione virale in subset di cellule CD34+ ben definiti, identificando fenotipi cellulari dove l'espressione virale è più ampia (CD34+/CD38-) e altri in cui è molto più limitata (CD34+/c-kit+) pur essendo in tutti i casi solo transitoria e annullandosi nel giro di 10 giorni dall'infezione. Solo dal subset CD34/CD38- gli Autori riescono a riattivare la replicazione virale e ad indurre l'infezione produttiva. Lo studio dimostra che il tipo di infezione che CMV realizza nel compartimento emopoietico dipende dal fenotipo della popolazione infettata e che sono solo le cellule CD34+/CD38- quelle in grado di supportare una infezione da CMV con il pattern tipico della latenza.

Wentworth DE, Gillim-Ross L, Espina N, Bernard KA. Mice susceptible to SARS coronavirus. *Emerg Infect Dis.* 2004 Jul;10(7):1293-6.

Descrizione di un modello murino per il Coronavirus di SARS (SARS-CoV) rappresentato da topi BALB/c in cui è stata ottenuta la replicazione di SARS-CoV nel parenchima intestinale e polmonare dopo inoculazione per via intranasale del virus

COMMENTO A.....

a cura di VALERIA GHISETTI

Lindstrom A, Odeberg J, Albert J. Pyrosequencing for detection of lamivudine-resistant hepatitis B virus. J Clin Microbiol. 2004 Oct;42(10):4788-95.

Il trattamento dell'epatite cronica da virus B (HBV) con lamivudina è associato ad un elevato tasso di farmacoresistenza dovuta all'emergenza di varianti virali che recano mutazioni ben specifiche nel sito catalitico della Reverse Transcriptasi virale, in corrispondenza della regione denominata YMDD. Le mutazioni che conferiscono resistenza alla lamivudina sono molto specifiche e riguardano il codone rtM204I/V accompagnato dalla mutazione compensatoria rtL180M. La resistenza a lamivudina è dovuta ad un ingombro sterico che si viene a creare negli strain mutati tra l'anello oxotiolano della lamivudina e la B-catena ramificata dell'isoleucina e della valina. La disponibilità di nuovi antivirali attivi su HBV come Adefovir rende fondamentale la precoce identificazione degli strain resistenti a lamivudina per poter modificare lo schema terapeutico.

Il lavoro del gruppo svedese del Karolinska Institutet di Stoccolma confronta la tecnica tradizionale di sequenziamento degli acidi nucleici secondo Sanger con la più recente tecnica di pyrosequencing (PSQ) basata sul sequenziamento del DNA mediante la rivelazione del pirofosfato (PPi) che viene rilasciato durante la sintesi del DNA, applicate entrambe alla identificazione di strain resistenti a lamivudina in pazienti in terapia.

Gli Autori ottimizzano tutti i protocolli di Polymerase Chain Reaction (PCR) per HBV alla base sia del sequenziamento che del PSQ su sieri HBV DNA positivi e quantizzati con metodo Amplicor HBV Monitor, allestendo una reazione di nested PCR per un tratto di 239 bp altamente conservato tra i diversi genotipi di HBV del gene pol, inglobante i loci di mutazione corrispondenti alle posizioni 180 e 204. Per la reazione di PSQ un primer del secondo step è stato biotinilato. Gli Autori creano uno standard wild type (WT) e uno resistente a lamivudina (Mut) a partire dai sieri noti e nel caso dello standard Mut, precedentemente caratterizzati per contenere le due mutazioni tipiche della farmacoresistenza. I due standard vengono miscelati in modo da creare miscele a concentrazione diversa di WT e Mut (da 100% WT a 0% Mut e da 0% WT a 100% Mut, con incrementi del 10%). Il DNA è stato estratto mediante metodo NucliSens da 500 ul di siero. La sensibilità del sistema testata su diluizioni scalari degli standard costruiti sia per il wild type che per lo strain mutato è stata di 1 copia/5 ul. Il sequenziamento secondo Sanger è stato applicato direttamente ai prodotti di PCR mediante Big Dye Terminator con sequenziatore ABI 310 e analisi delle sequenze ottenute con il software Sequencher (Gene Codes Corporation, US). Per il PSQ il prodotto di PCR biotinilato è stato legato ad una biglia paramagnetica e la reazione di PSQ è stata effettuata a 25°C in un volume finale di 50 ul con un pirosequenziatore automatico e il kit PSQ SNP 96. Per il PSQ è stata disegnata una strategia di dispensazione di specifici nucleotidi in modo da disegnare distinti profili specifici per le varianti genotipiche di HBV. Questa strategia consente di ridurre il numero di cicli di reazione aumentando la qualità finale della sequenza e quindi anche l'efficienza della lettura

del sistema. Questo disegno della reazione di PSQ è possibile quando i siti coinvolti nel generare mutazioni sono pochi e ben definiti e le aree che circondano tali siti sono relativamente conservate. Al contrario, nel caso di sequenze con elevato polimorfismo va attuata una strategia diversa che è quella di dispensazione ciclica dei nucleotidi.

Entrambi i metodi di sequenziamento tradizionale e mediante PSQ hanno identificato correttamente la presenza del WT e del Mut nelle miscele costruite con il 100% e 50% sia di WT che di Mut, ma in quelle composte da 80% WT con il 20% Mut e in quelle costituite dal 20% WT con 80% Mut, il PSQ ha dato risultati migliori, in particolare nella miscela 20% WT+80% Mut in cui il sequenziamento tradizionale non riconosceva la presenza del WT. A conferma di ciò, in ripetuti esperimenti, scendendo a concentrazioni di WT inferiori al 20%, il sequenziamento tradizionale non riusciva ad identificare il WT in una popolazione di Mut mentre PSQ sì. I risultati sono stati sovrapponibili per entrambe le mutazioni rtM204V e rtL180M.

Gli Autori concludono che la tecnica di PSQ è almeno sensibile quanto il sequenziamento tradizionale se non di più e con alcuni indubbi vantaggi: adattabilità a carichi di lavoro elevati e velocità di analisi superiore (96 campioni sequenziali in 10 minuti con PSQ contro 16 in un'ora con il sequenziatore ABI 3100). La preparazione del campione è più semplice e più rapida, completamente automatizzata con una riduzione di circa cinque volte del tempo richiesto per la preparazione dei campioni per l'analisi di sequenza tradizionale. Inoltre, è possibile disegnare strategie di dispensazione dei nucleotidi specifiche per le mutazioni che si vogliono cogliere, come nel caso di quelle che coinvolgono la resistenza a lamivudina. Questo approccio è molto importante perché ovvia ad uno dei problemi insiti nel PSQ che è quello di leggere una corta sequenza (40 bp) rispetto al sequenziamento tradizionale che legge fino a 500 bp. Gli Autori concludono che il PSQ va molto bene per l'analisi su larga scala di mutazione puntiformi (come quelle che coinvolgono la resistenza a lamivudina), ma non per l'analisi di ampie regioni genomiche ad alta variabilità in cui il sequenziamento tradizionale rimane il gold standard.

LATINORUM SCRITTO, LATINORUM PARLATO E PAROLE ITALIANE LETTE IN INGLESE: SI SALVI CHI PUÒ

DONATO FUMAROLA,
*già Professore Ordinario di Microbiologia Medica
Università di Bari*

Lo studio del latino nei vari Paesi del Mondo, a parte qualche lodevole eccezione, è ormai ridotto al lumicino: ciò nonostante, questa prestigiosa lingua classica viene ancora utilizzata sia nello scritto che nel parlato, nobilitando qualsiasi tematica. Peraltro non avendo tutti gli utilizzatori le medesime conoscenze di base, sono abbastanza frequenti le occasioni del cosiddetto "latinorum", cioè il riscontro di espressioni non propriamente corrette se non addirittura grossolanamente errate e spesso esilaranti. Queste "perle" se possono in un certo senso essere in parte giustificate (ad es. negli USA) non lo sono affatto in Europa e, a maggior ragione nel nostro Paese, ove la tradizione della coltura latina non dovrebbe avere che fedeli e competenti seguaci.

È necessario sottolineare, innanzitutto, che l'uso della lingua latina è reso obbligatorio (almeno fino a questo momento) in Zoologia, Botanica, Microbiologia, per poter classificare, dopo averli battezzati, secondo lo schema di Linneo, tuttora adottato, con l'indicazione di cognome (genere) e nome maschile, femminile o neutro, mentre la specie scaturisce dall'aggettivo (ovviamente pertinente al caso nominativo) o dal genitivo. Un qualsiasi studente della prima ginnasiale di un tempo, sarebbe stato in grado di non commettere gli errori più o meno clamorosi che si sono verificati. Orbene, per limitarci alla sola area della nomenclatura dei batteri, abbiamo più volte segnalato (vedasi una nota pubblicata nel 1998 sulla rivista Biologi Italiani) il "latinorum" esibito dai vari ricercatori in occasione della proposta di denominazione per batteri nuovi (cioè di recente individuazione) denominazione spesso avvalorata dal Comitato Internazionale di esperti, dotato anche di una rivista mensile (Int. J. Syst. Bacteriol), salvo una volta accertato dopo mesi o anni il pesante errore grammaticale, correre ai ripari con l'esatta nomenclatura. In questi casi il "latinorum" si potrebbe definire professionale rispetto a quello occasionale che esibiscono uomini di coltura, anche nostrani che il latino dovrebbero conoscere, teoricamente, meglio degli americani (i più coinvolti nel caso della nomenclatura proposta per i nuovi batteri). per limitare la citazione delle perle del tipo professionale più recenti, vorrei segnalare quanto ha riguardato il batterio responsabile di una interessante patologia di malassorbimento intestinale (con disturbi sistemici di altri apparati e sistemi) nota come malattia di Whipple. Il "nuovo batterio" che con convincente raccolta di dati è stato indicato come associato alla malattia, è stato inizialmente battezzato (metà degli anni 80) come *Tropheryma whippelii* laddove la prima parola (genere) deriva dal greco latinizzato che sottolinea la barriera all'assorbimento intestinale, caratteristico della malattia, mentre la specie era costruita dal geni-

tivo, latinizzato, dall'Autore che per primo la descrisse clinicamente.

Nel caso in questione, solo dopo alcuni anni i tassonomisti si sono accorti che il genitivo latinizzato era scorretto in quanto scaturiva dal modo in cui veniva letta, in inglese, la parola Whipple e cioè Whippei; la denominazione, ora corretta, viene scritta in tutti i testi e le pubblicazioni, come Whipplei.

Altro esempio, ancora più recente, riguarda l'area delle Ehrlichiosi, zoonosi emergenti dall'inizio degli anni 90 anche nella patologia umana. Orbene, tra i diversi genogruppi del genere Ehrlichia, patogeni per animali (domestici e selvatici) ma anche per l'uomo, uno in particolare - vicino a *E. equi* ha avuto una travagliata denominazione. Infatti, identificato come responsabile della cosiddetta Ehrlichiosi umana granulocitaria (HGE) è stato ufficialmente definito, nel 2001, come *Anaplasma phagocytophila* (per interessanti formazioni, morule, rilevabili spesso nel citoplasma dei fagociti e utilizzate, assieme ad altre procedure, dirette e indirette, nella diagnostica). Successivamente è stato indicato come *Anaplasma phagocytophilum*,

essendo stato emendato l'aggettivo in relazione al sostantivo (neutro); con tale veste è stato presente in numerosi lavori (più di dieci) esibiti, sulle tematiche della HGE, nel corso dell'ultimo Meeting Annuale della Società Americana di Microbiologia (New Orleans, 23-27 maggio 2004). Per inciso la stessa sorte coinvolse, anni fa, una specie particolare di Mycoplasma, *Mycoplasma incognitum* (che sembrava correlato all'eziopatogenesi dell'AIDS), successivamente emendato come *M. incognitum* (anche Mycoplasma si considera neutro), per finire definitivamente come *M. fermentans*. Tornando alla HGE, per chiarezza ricordiamo che la Ehrlichiosi umana monocitica (HME) è legata ad un altro genogruppo (*Ehrlichia chaffeensis*).

Anche in questa patologia si rilevano morule nel citoplasma, ovviamente dei monociti. Sempre nell'area biomedica, non per errori di nomenclatura però, non possiamo ignorare che ad es. del tutto di recente (2002) in occasione dell'annuale Congresso americano dell'E:I:S: (Epidemic Intelligence Service) svoltosi ad Atlanta, una sessione riservata alle infezioni contratte in ospedale, aveva come titolo la frase "Primum no nocere" adeguata agli argomenti trattati, ma errata nel latino.

Molto più eclatanti anche per numero di lettori cui sono riservati, sono gli esempi di latinorum segnalati ad es. nei quotidiani di informazione e commessi anche da illustri uomini di coltura. Sono stati pescati un paio di articoli (comparsi a distanza di qualche mese) nei quali da un maestro di giornalismo (fondatore e direttore di un diffuso quotidiano), è stato ripetuto un "parce sepultum" e poi ancora un "e malo bonus", che avrebbero riempito la rubrica "perle giapponesi" del famoso settimanale satirico degli anni 1949-50, il "Travaso delle idee" destinata alla raccolta di errori di stampa o errori veri e propri (la cui pubblicazione era compensata con 500 lire). Sempre dallo stesso autore e sempre di recente è stato pescato un "usque tandem" decapitato della congiunzione temporale e locativa "quo" senza la quale il concetto espresso dal giornalista principe assume un significato completamente

differente da quello che era nelle intenzioni.

Dopo il latinorum “scritto”, esiste un latinorum “parlato”, che ci riempie di perplessità ancora maggiori rispetto al primo. Intendiamo riferirci alla pronuncia inglese del latino, per cui ad es. “genius” diventa “ginias”(!) che abbiamo ascoltato di recente, anche da autorevoli commentatori televisivi in occasione della scomparsa del grande jazzista Ray Charles. Ancora, per citare qualche altro esempio, “media” (per indicare i mezzi di comunicazione, ma anche i terreni di coltura per batteri e virus<) letta come “midia” e “Miles (la famosa commedia di Plauto) pronunciate “Mailes” e “virus” viene letto come “vairus” (purtroppo anche da illustri virologi italiani).

Come si nota - per inciso - la lingua batte dove il dente duole e la Microbiologia offre ancora spunti anche divertenti. A questo ultimo proposito, il massimo della mostruosità a mio avviso è stato da anni raggiunto per il colibacillo (batterio del colon) fondamentale componente della flora batterica intestinale dell'uomo e degli animali (ma anche patogeno in alcune circostanze per alcuni stipiti). la denominazione ufficiale del microrganismo; *Escherichia coli* con sigla *E.coli* universalmente adottata, è da molti decenni esibita, nel lin-

guaggio corrente come *I.colai*(!).

Dulcis in fundo, per completare questa rassegna dedicata alla confusione delle lingue, merita attenzione anche la problematica delle parole italiane, inserite nello scritto inglese nella loro stesura originale, ma lette secondo la pronuncia inglese (!).

Sarebbe come se in un testo italiano che contenesse la parola inglese *leader* questa fosse letta come scritta e non come si pronuncia correttamente in inglese.

Come si sa, nei vocabolari inglese-italiano per tutte le parole viene indicata ovviamente la giusta pronuncia: lo stesso trattamento è riservato, purtroppo, anche per le parole latine e per quelle italiane per cui ad es. *scenario* diventa qualcosa vicino a “*sinariou*”, *studio* viene letta come “*stiudou*”, *opera* (in senso musicale) diventa “*apra*”, *bravo* si trasforma in “*breviou*” (almeno in francese c'è solo l'accento finale sulla *o*, *via* (nel senso di tramite) diventa “*vaia*” e così di seguito.

Senza tema di smentite, ritengo che *pizza* sia l'unica parola italiana non deformata nel linguaggio mondiale, con buona pace di tutti i linguisti, incluso il sottoscritto (modesto dilettante).

A questo punto, ringraziando dell'attenzione dedicata a queste divagazioni, tolgo il disturbo.