

(25,7%), mentre il QFT in 1 caso (2,8%). In questo gruppo la percentuale di indeterminati è stata del 14,3% circa per entrambe i test commerciali.

Conclusioni. Questi dati preliminari suggeriscono che l'utilizzo di un controllo positivo è cruciale nei pazienti gravemente immunodepressi e, nella nostra esperienza, il T-SPOT.TB sembra essere più sensibile in questo gruppo rispetto al QFT.

036

DATI PRELIMINARI SULL'ANTIGENICITÀ DELLA PROTEINA PGP3 DI *C. PSITTACI*

Pignanelli S.¹, Donati M.¹, Storni E.¹, Mazzeo C.¹, Magnino S.², Renzi M.³, Cevenini R.¹

¹DMCSS - Sez. Microbiologia, via Massarenti 9, 40138 Bologna

²IZSLER - Sez. Diagnostica di Pavia, strada Campoggi 61, 27100 Pavia

³IZSLER - Sez. Diagnostica di Bologna, via Fiorini 5, 40100 Bologna

Introduzione. *C. psittaci* è un batterio responsabile di un'ampia gamma di infezioni negli animali e di infezioni occasionalmente trasmissibili all'uomo (zoonosi). In questo studio è stata indagata l'antigenicità della proteina pgp3, proteina a codificazione plasmidica, mediante la dimostrazione di anticorpi specifici in corso di infezione.

Metodi. La risposta sierologica, nei confronti della proteina ricombinante pgp3 di *C. psittaci*, è stata studiata mediante la tecnica del Western Blot (WB). I sieri saggiati provenivano da 3 piccioni positivi all'isolamento di *C. psittaci* e da 220 piccioni indagati a caso. Inoltre è stato studiato 1 siero umano da paziente con polmonite atipica positiva all'isolamento di *C. psittaci*.

Risultati. Sono stati individuati anticorpi specifici anti-pgp3 sia nei sieri di piccione positivi all'isolamento di *C. psittaci*, sia nel 40% dei sieri di piccione prelevati a caso (88 su 220 sieri testati). Inoltre, il siero del paziente con polmonite atipica, reagiva con pgp3 di *C. psittaci*.

Conclusione. Dai dati preliminari ottenuti in questo studio, la proteina pgp3 si è dimostrata un antigene riconosciuto in corso di infezione attiva e comunque un marcatore di infezione (piccioni).

037

IDENTIFICAZIONE DI CEPPI DIVERSI DI *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* IN PAZIENTI AFFETTI DA FIBROSI CISTICA

Pulcrano G.¹, Lambiase A.¹, Del Pezzo M.¹, Raia V.², Rossano F.¹

¹Dipartimento di Biologia e Patologia Cellulare e Molecolare "Luigi Califano", Università degli Studi di Napoli "Federico II", via Pansini, 80100 Napoli

²Dipartimento di Pediatria, Università degli Studi di Napoli "Federico II", via Pansini, 80100 Napoli

Introduzione. *Pseudomonas aeruginosa* (PA) è il patogeno che causa più dell'80% delle affezioni polmonari in soggetti affetti da Fibrosi Cistica. Tra i fattori di virulenza di PA ci sono i pili, fondamentali nell'interazione con le cellule dell'epitelio polmonare e composti da piline, subunità monomeri-

che di circa 15 kDa, codificate dal gene pilA. Il confronto delle sequenze amminoacidiche di piline estratte da ceppi diversi di PA ha evidenziato che la regione all'estremità N-terminale, coinvolta nell'assemblaggio del pilo, è fortemente conservata, mentre la regione C-terminale, coinvolta nell'interazione con i recettori eucariotici, è molto variabile. Anche l'operone della pilina presenta un'enorme variabilità genica: infatti in alcuni ceppi il gene pilA si trova strettamente a monte del gene tRNA-Thr, mentre in altri sono frapposte sequenze codificanti per proteine coinvolte nella biosintesi del pilo.

Lo scopo del lavoro è caratterizzare ceppi di PA isolati dagli espettorati di pazienti affetti da Fibrosi Cistica, colonizzati in modo cronico, sequenziando il gene pilA.

Metodi. Dai ceppi isolati è stato estratto il DNA genomico e il gene per la pilina è stato amplificato per PCR mediante l'impiego di due oligonucleotidi che cadono rispettivamente nella regione conservata al 5' del gene e a valle dello stesso gene nella regione del tRNA-Thr. I prodotti di PCR sono stati sequenziati.

Risultati. Nei ceppi analizzati sono stati evidenziati due prodotti di PCR di lunghezza differente, uno corrispondente alla lunghezza attesa per il gene della pilina (circa 500 bp) e l'altro di circa 1500 bp corrispondente alla lunghezza del gene pilA e un gene aggiuntivo. Gli amplificati di 500 bp sono stati sequenziati e in alcuni casi sono risultati identici al gene pilA del ceppo PAK, in altri casi simili al 90% al gene del ceppo PA103.

Conclusioni. Dai risultati preliminari si evince che i ceppi analizzati appartengono a gruppi filogenetici differenti.

038

CORRELAZIONE TRA STADIO DELL' INFEZIONE RESPIRATORIA CAUSATA DA *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* E LIVELLO SIERICO DI ANTICORPI SPECIFICI IN PAZIENTI CON FIBROSI CISTICA

Roschetto E., Lambiase A., Del Pezzo M., Raia V., Ferri L., Gallè F., Rossano F.

Dip. Biologia e Patologia cellulare e Molecolare "Luigi Califano" e Centro di Riferimento Campano per la Fibrosi Cistica - Dip. di Pediatria, Facoltà di Medicina e Chirurgia, Università di Napoli "Federico II".

L'infezione polmonare da *Pseudomonas aeruginosa* (PA) in pazienti con Fibrosi Cistica (FC) è un evento quasi inevitabile. La progressione del danno polmonare è imputabile non solo all'azione patogena del microrganismo, ma anche all'attività difensiva dell'ospite che, incapace di eliminarlo, automantiene un processo di flogosi cronica. Nell'infezione da PA la produzione di anticorpi correla con la comparsa del morfotipo mucoide, la cronicizzazione dell'infezione e la severità della prognosi.

Obiettivi. Valutare in 100 pazienti afferenti al Centro FC Campano, la relazione tra stadio dell'infezione respiratoria causata da PA e livello della risposta anticorpale specifica.

Materiali e Metodi. La ricerca degli anticorpi anti-PA è eseguita mediante test ELISA che rivela anticorpi sierici contro elastasi, proteasi alcalina ed esotossina A.

Risultati. Tra pazienti con colture costantemente negative, il 69.8% è negativo all'esame sierologico, il 22.7% è risultato positivo (diluizione sierica 1:1000) e il 7.5% ha dato risultati border-line. Tra pazienti con colonizzazione sporadica, il 57.2% ha mostrato siero-negatività ed il 42.8% ha dato valo-

ri positivi. Tra pazienti con colonizzazione intermittente, il 50% è risultato sieronegativo e l'altro 50% sieropositivo. Nessuno dei pazienti con infezione cronica è risultato sieronegativo mentre si è avuto un risultato positivo nel 91% e un risultato border-line nel 9%.

Conclusioni. Il test applicato presenta una buona sensibilità permettendo l'identificazione di 91% dei pazienti con uno stato di infezione. La specificità è del 77.3% ma tale valore potrebbe essere più alto considerando che gli anticorpi anti-PA possono essere evidenziabili prima della positività colturale. La sierologia, quindi, sembra avere un valore addizionale nella rilevazione precoce di PA quando la densità batterica è troppo bassa per essere evidenziata mediante coltura dell'escreato. L'utilità clinica del test emerge sia ai fini diagnostici nell'individuazione tempestiva della presenza di una infezione polmonare, sia ai fini prognostici per avere informazioni sul decorso della malattia a livello respiratorio.

039

VALUTAZIONE DI UN METODO RAPIDO PER LA DIAGNOSI INFEZIONE DA *H.PYLORI* ATTRAVERSO RICERCA DI ANTIGENE FECALE

Gaibani P.¹; Pace A.¹; Cesari H.²; Sambri V.¹.

¹Sezione di Microbiologia, DMCCS, Università degli Studi di Bologna;
²Dyaset, Portomaggiore (FE).

Introduzione. L'infezione gastro-duodenale sostenuta da *Helicobacter pylori* è stata riconosciuta da almeno 20 anni come una delle cause principali della patologia dispeptica. Fra i diversi metodi microbiologici attualmente disponibili per la diagnosi di Laboratorio di infezione da *H.pylori*, la ricerca dell'antigene fecale ha assunto un ruolo preminente. Tale indagine si basa principalmente su tecniche immunoenzimatiche o immunocromatografiche.

Metodi. Oggetto della presente valutazione è stato un metodo immunocromatografico rapido per la ricerca dell'antigene fecale di *H.pylori* (DYASET). È stata valutata la sensibilità analitica di questo test mediante impiego di diluizioni scalari (da 1 mg/ml fino a 0.001 mg/ml) di una sospensione calibrata di *H.pylori* (ceppo CCUG 17874) in soluzione fisiologica, mediante apposizione di un volume totale di tale sospensione, per ciascun dispositivo, di 150 µl. Sono inoltre stati studiati 30 campioni di feci ottenuti da pazienti con diagnosi clinica di malattia dispeptica da *H.pylori* e risultati positivi al metodo immunoenzimatico (EIA) *Helicobacter pylori* antigene (ASTRA Diagnostici). Tutti i campioni fecali studiati col metodo immunocromatografico sono stati preparati sospendendo un volume pari ad almeno quattro grani di riso nella provetta contenente 1 ml di diluente del campione fornita col kit, agitando fino ad ottenere la completa dissoluzione della messa fecale e centrifugando la provetta secondo le istruzioni del produttore. L'età dei pazienti studiati variava da 10 mesi a 74 anni e la suddivisione per sesso era del 48.4% per il sesso femminile a del 51.6% per quello maschile.

Risultati. La valutazione della sensibilità analitica del test immunocromatografico ha dimostrato che questo metodo è in grado di identificare la presenza di antigene batterico fino ad una diluizione di 0.007 mg/ml. Tenuto conto del volume totale di sospensione applicata al dispositivo, la quantità minima di antigene identificabile in soluzione fisiologica è

pari a 1.05 µg. La concordanza fra il metodo EIA ed il test immunocromatografico studiati è stata del 90% (27 campioni positivi identificati dal test immunocromatografico contro 30 positivi quando testati col metodo EIA). I 3 campioni risultati negativi al test immunocromatografico sono stati saggiati con un secondo test EIA (DAKO) e sono stati confermati come positivi.

Conclusioni. I dati indicano che il test immunocromatografico rapido studiato può essere utilizzato, per la determinazione fecale di *H.pylori*, con risultati concordanti al 90% con il metodo EIA.

040

UTILIZZO DEL QUANTIFERON (QF)-TB GOLD IN UNA COORTE DI SOGGETTI PEDIATRICI E HIV POSITIVI

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

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

Introduzione. Nella diagnosi di infezione tubercolare il TST presenta bassa sensibilità e specificità in particolare nella popolazione pediatrica e nei pazienti HIV positivi. Nei soggetti HIV positivi l'immunodepressione determina una progressiva perdita della risposta immunitaria, producendo così possibili falsi negativi. Nella popolazione pediatrica tale diagnosi risulta indaginosa per la natura paucibacillare della malattia, a cui si aggiunge l'evenienza di malattia dovuta a micobatteri non-tubercolari. Numerosi studi hanno dimostrato l'affidabilità del test TB-Gold nella diagnostica dell'infezione tubercolare. A tutt'oggi ci sono pochi dati riguardanti i bambini e i pazienti HIV positivi.

Obiettivo dello studio. Valutare il ruolo del test TB-Gold in queste due diverse popolazioni.

Metodi. Sono stati analizzati 124 soggetti, 77 bambini (età 1-14 anni) e 47 HIV positivi. Il test TB-Gold (Cellestis), rileva la quantità di IFN-γ prodotta dai linfociti T stimolati con proteine specifiche: ESAT-6 e CFP-10.

Risultati. Dei 47 pazienti HIV positivi, 8 (17%) sono TB-Gold positivi (linfociti T CD4 Mediana±DS: 195±54 cell/mmc), 24 (51%) negativi (365±54) e 15 (31%) indeterminati (99±58). Gli 8 pazienti TB-Gold positivi presentavano una tubercolosi attiva con conferma microbiologica/clinica. Nei 24 pazienti risultati negativi è stata successivamente diagnosticata una patologia non-tubercolare. In 15 pazienti il TB-Gold è stato indeterminato. Dei 77 bambini analizzati, 29 (37%) sono risultati positivi, di cui 21 con conferma microbiologica/clinica e 8 contatti; 27(35%) negativi e 21(27%) indeterminati.

Conclusioni. I nostri dati dimostrano il possibile utilizzo del TB-Gold nelle due popolazioni in studio. Nei pazienti HIV positivi l'analisi dei dati ha evidenziato che il risultato indeterminato del TB-Gold è correlato al basso numero di CD4, mentre nella popolazione pediatrica è correlato anche all'età. I test indeterminati sono risultati compatibili con una risposta anergica e a differenza di un risultato negativo al TST non interrompono l'iter diagnostico, infatti in 6 HIV positivi e 3 bambini è stata successivamente diagnosticata un'infezione tubercolare.