

170

### NEUROBORRELIOSI DI LYME E MALATTIA DI PARKINSON: STUDIO DI UN CASO POST-MORTEM

Cazzavillan S.<sup>1</sup>, Segala C.<sup>1</sup>, D'Amore EGS.<sup>1</sup>, Bonoldi E.<sup>1</sup>, Rasso M.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>U.O. Anatomia Patologica,

<sup>2</sup>U.O. Microbiologia e Virologia, Ospedale San Bortolo, Via Rodolphi, 36100 Vicenza, Italia.

**Introduzione.** La borreliosi di Lyme è un'infezione multisistemica trasmessa dalla zecca (*Ixodes*) e causata dalla spirocheta *Borrelia burgdorferi sensu lato* (BB) che provoca patologie cutanee, e, se non trattata, cardiache, reumatologiche e neurologiche. Questa infezione è endemica nell'area del triveneto. La neuroborreliosi di Lyme (LN) è molto rara e la sintomatologia può a volte essere confusa con la malattia di Parkinson (PD) o altre patologie neurodegenerative.

**Metodi.** Da un paziente (anni 57 M) con diagnosi clinica di PD deceduto per polmonite sono stati effettuati prelievi autoptici da corteccia cerebrale, cervelletto, ponte, nervo ottico, poligono di Willis, arteria coronaria, aorta toracica e addominale e arteria renale. I prelievi sono stati divisi in 2 parti, per l'estrazione e amplificazione del DNA (nested-PCR) e per PCR in situ. È stata ricercata una sequenza conservata del gene codificante per la flagellina di BB. Come controllo è stato utilizzato un ceppo di BB ATCC. Gli amplificati sono stati sequenziati per conferma.

**Risultati.** Tutti i campioni, ad esclusione del poligono di Willis, sono risultati positivi all'amplificazione sia in provetta che in situ. La sequenza ha confermato la provenienza del DNA da BB.

**Conclusioni.** Il paziente ha evidenziato la presenza di una infezione sistemica da BB e quindi potrebbe presumibilmente avere sviluppato una LN con sintomatologia analoga a quella associata al PD. Da questo studio emerge l'utilità di una valutazione sierologica e molecolare per la determinazione della presenza di BB in caso di sospetto di patologia neurodegenerativa non altrimenti spiegabile.

171

### REAL-TIME PCR PER LA RICERCA DI HCV RNA NEL PLASMA.

Cerutti F.<sup>3</sup>, Allice T.<sup>1</sup>, Gabella S.<sup>1</sup>, Pittaluga F.<sup>1</sup>, Varetto S.<sup>1</sup>; Giliberto G.<sup>1</sup>, Martelli S.<sup>1</sup>; Smedile A.<sup>2</sup>; Ghisetti V.<sup>1</sup>; Marchiaro G.<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>S.C. Microbiologia, Ospedale Molinette, C.so Bramante 88/90, 10126 Torino.

<sup>2</sup>Dip. Gastroenterologia, Ospedale Molinette, C.so Bramante 88/90, 10126 Torino.

<sup>3</sup>Università di Torino.

**Introduzione.** La strategia terapeutica per i pazienti con epatite cronica HCV-correlata è basata sulla quantizzazione di HCV-RNA prima, durante e dopo la terapia. Sono disponibili in commercio diversi test qualitativi e quantitativi basati sulla reazione di RT-PCR end-point e sulla tecnologia del DNA

ramificato (bDNA), differenti per sensibilità e range dinamico. Inoltre, in tutti questi test la fase di estrazione dell'RNA virale manca di sufficiente standardizzazione. Scopo di questo lavoro è confrontare la quantizzazione di HCV-RNA mediante bDNA (VERSANT 3.0, Bayer) con il sistema completamente automatizzato COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan (CAP/CTM, Roche) che consiste di due moduli: l'estrazione automatizzata dell'RNA da plasma/siero e la Real-Time-PCR.

**Metodi.** Validazione analitica su un pannello di performance a concentrazione nota; validazione clinica su 151 plasmidi di pazienti anti-HCV positivi e testati per HCV-RNA con bDNA.

**Risultati.** La validazione analitica ha dimostrato una buona correlazione tra valori attesi e valori osservati con CAP/CTM, su un range dinamico di 7 Logs. La validazione clinica ha evidenziato una buona correlazione tra i due metodi ( $r=0,919$ ,  $95\%CI=0,89\div0,94$ ) e una differenza media di quantizzazione con una leggera sottostima da parte di CAP/CTM (Differenza media $\pm$ SD= $-0,31\pm0,43$  LogIU/ml). La valutazione in rapporto al genotipo (1 $\div$ 4) conferma una buona correlazione tra bDNA e CAP/CTM ( $0,87<r<0,96$ ); nei genotipi 1 $\div$ 3 la differenza media dei valori ottenuti tra i due sistemi era di circa 0.3 log, mentre per il genotipo 4 è risultata minima ( $0,014\pm0,24$ ). Per via della diversa sensibilità dei due sistemi (bDNA 615 UI/ml e CAP/CTM 15 UI/ml), il 71% dei campioni negativi con bDNA erano positivi con CAP/CTM, con valori compresi tra 1,6 $\div$ 3,7 Log IU/ml.

**Conclusioni.** Il sistema CAP/CTM consente di quantizzare HCV-RNA su un ampio range dinamico, in modo rapido, accurato e con una eccellente sensibilità, con efficienza simile per i vari genotipi virali. Permangono differenze nella quantizzazione rispetto al metodo del bDNA che necessitano di ulteriori analisi.

172

### INFEZIONE DA MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS IN ABKAZIA: STUDIO SULL'INSORGENZA DELLE FARMACO RESISTENZE

D'Amato V.<sup>1</sup>, Meacci F.<sup>1</sup>, Costa C.<sup>1</sup>, Pardini M.<sup>2</sup>, Fattorini L.<sup>2</sup>, Orefici G.<sup>2</sup>, Varaine F.<sup>3</sup>, Bonnet M.<sup>4</sup>, Jarosz T.<sup>5</sup>, Orrù G.<sup>6</sup>, Isola D.<sup>6</sup>, Niemann S.<sup>7</sup>, Rüschi-Gerdes S.<sup>7</sup>, Rinder H.<sup>8</sup>, Yesilkaya H.<sup>9</sup>, Barer M.<sup>9</sup>, Andrew P.W.<sup>9</sup>, Oggioni M.R.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>LAMMB, Dip. Biologia Molecolare, Policlinico Le Scotte Università di Siena, Italia;

<sup>2</sup>Istituto Superiore di Sanità, Roma, Italia;

<sup>3</sup>Médecins Sans Frontières, Parigi, Francia;

<sup>4</sup>Epicentre, Parigi, Francia;

<sup>5</sup>3Es, Parigi, Francia;

<sup>6</sup>Università di Cagliari, Italia;

<sup>7</sup>FZ Borstel, Germania;

<sup>8</sup>LGL Oberschleißheim Germania;

<sup>9</sup>University of Leicester, UK.

**Introduzione.** Il progetto LONG-DRUG è uno studio longitudinale, supportato dalla Comunità Europea e realizzato in Abkazia, un'area di alta prevalenza di tubercolosi multi-resistente (MDR-TB). L'obiettivo principale è la caratterizzazione molecolare delle farmaco-resistenze in *Mycobacterium tuberculosis* (MTB), il chiarimento della relazione epidemiologica dei cloni identificati, e la delucidazione della rilevanza clinica delle sotto-popolazioni resistenti di MTB.

**Metodi.** La caratterizzazione di campioni e isolati è effettua-