

180

FUSARIOSI DISSEMINATA IN UN PAZIENTE IMMUNOCOMPROMESSO

Leo L.¹, Musio K.¹, D'Aversa P.¹, Rana A.², Greco G.², De Francesco R.², Pavone V.².

¹Sez. Microbiologia, U.O. Medicina di Laboratorio

²Rep. Ematologia, A.O. "Pia Fondazione di Culto e Religione Card. Panico", v. Pio X, Tricase (Le)

Introduzione. Il micete ialino *Fusarium solani* (*Fs*), considerato un comune contaminante, sporadicamente può causare infezioni profonde in pazienti immunocompetenti ed infezioni sistemiche in pazienti immunocompromessi. In questo studio *Fs* è stato isolato da un paziente affetto da leucemia mieloide acuta, dapprima da un tampone nasale di controllo e dopo due settimane da una sua emocoltura positiva. Il paziente, con malattia refrattaria in progressione, al momento dell'infezione da *Fs* era in stato di neutropenia di grado 4 (<500 neutrofili) e in profilassi antifungina con itraconazolo per os. La comparsa di lesioni nodulari cutanee associata ad emocolture positive per *Fs*, ha suggerito un quadro clinico di infezione disseminata.

Metodi. L'isolamento primario è stato effettuato su agar destrosio Sabouraud incubato a 30°C per 3-7 giorni e su flaconi di emocoltura (Bact/Alert, Biorimex) incubati a 35°C per 7 giorni. Successivamente una coltura pura ottenuta da singolo tipo ifale è stata inoculata su agar patata destrosio (PDA) incubato a 25°C. Per confermare l'identificazione fenotipica, il DNA, amplificato per PCR, è stato sottoposto ad analisi di sequenza.

Risultati. Su PDA le colonie (a rapida crescita) presentavano micelio cotonoso, color bruno chiaro. Microscopicamente si osservavano ife ialine e settate, numerosi microconidi ovali o fusiformi, con 1 o 2 celle, su corte e strette filidi, macroconidi arcuati con 3-5 celle, clamidoconidi globosi singoli o in coppia. Il DNA dell'isolato sequenziato e comparato con sequenze di DNA mediante allineamento in BLAST ha mostrato il 100% di omologia con *Fs*. L'accession number dell'isolato è DQ535185.

Conclusioni. Nei miceti filamentosi la diagnosi di specie, spesso difficoltosa per la notevole variabilità fenotipica degli isolati, oltre che un valore epidemiologico assume a volte rilevanza terapeutica. Pertanto in questo studio l'identificazione morfologica macroscopica e microscopica di *Fs*, è stata confermata dai risultati dell'analisi di sequenza.

181

LA TM-REAL TIME SYBR GREEN PCR PER LA DISCRIMINAZIONE RAPIDA DEI GENOTIPI HPV A BASSO RISCHIO

Leo G.[°], Pisanò M.[°], Pitotti E.[°], Ciannamea B.^{°°}, Megha M.^{°°}, Spedicato S.*[°], Storelli F.*[°], Vergara D.*[°], Moschettini G.*[°] ze Tinelli A.^{°°°}.

[°]U.O. Biol. Mol. e Oncol. Sperm., P. Oncologico "Vito Fazzi" AUSL/LEI P.zza Muratore 73100 Lecce;

^{°°}U.O. Microb. e Virol. AUSL/LEI P. Bottazzi 73100 Lecce;

^{°*}Dip.Sc.eTecn.Biol.eAmbien. (DiSTeBA) Università degli Studi di Lecce strada provinc. Lecce-Monteroni 73100 Lecce;

^{°°°}U.O. Ginecol. Ospedale "Vito Fazzi" AUSL/LEI P.zza Muratore 73100 Lecce.

Introduzione. La diagnosi dell'infezione da HPV si basa

sull'analisi molecolare mediante PCR delle ORF L1 ed E6/E7. Numerose metodiche sfruttano l'analisi delle differenze delle sequenze nucleotidiche di queste regioni per discriminare i diversi genotipi virali. Scopo del lavoro è mettere a punto un sistema rapido di indagine che impiega l'analisi delle differenze esistenti in termini di percentuale C+G nelle ORF L1 dei tipi virali di HPV, per la rivelazione e genotipizzazione dell'infezione da papillomavirus mediante l'analisi delle curve di melting degli amplificati.

Metodi. Il DNA virale è stato purificato da 50 campioni provenienti da *scrape* cervicale, amplificato mediante i primer MY09 e MY11 e i prodotti sequenziati tramite un sequenziatore ABI Prism 310 (Applied Biosystem). I risultati sono stati confrontati con le sequenze in banca dati. L'analisi delle curve di melting è stata condotta con il fluoroforo SYBR Green in un sistema PCR Real Time (Roche).

Risultati. I virus genotipizzati tramite sequenziamento sono stati analizzati con PCR Real Time in modo da poter associare a ciascun genotipo una *Temperatura di melting* (*T_m*) caratteristica. Allo scopo, oltre al contenuto in CG, sono state determinate le opportune condizioni sperimentali per eseguire le indagini. Si è quindi testato il protocollo conducendo l'analisi su campioni incogniti. I risultati più significativi si sono ottenuti per l'identificazione dei genotipi HPV16 e 18 e HPV6 e 11, dove all'analisi delle *T_m* si riscontra una differenza maggiore di un grado tra i genotipi ad alto rischio (81,28°C ± 0.29 S.D.) e quelli a basso rischio (82,48°C ± 0.27 S.D.) che permette così di discriminare i tipi 6 ed 11 dagli altri.

Conclusioni. Rispetto a metodiche tradizionali la Real Time PCR offre il vantaggio di essere più rapida, molto più sensibile e, con la determinazione delle *T_m*, fornisce indicazioni sui genotipi responsabili dell'infezione da HPV utili per la messa a punto di un protocollo diagnostico per la discriminazione rapida delle infezioni da ceppi a basso rischio.

182

EPISODIO EPIDEMICO DI TOSSINFEZIONE ALIMENTARE ASSOCIATO AD INFEZIONE DA ESCHERICHIA COLI ENTERO-AGGREGATIVO IN UN AGRITURISMO

Staffolani M. (a), Fisichella S. (a), Striano G. (a), Colletta S. (b), Ferri G. (b), Minelli F. (c), Marziano M.L. (c), Scavia G. (c), Caprioli A. (c)

a) Istituto Zooprofilattico Sperimentale Umbria e Marche, Macerata;

b) ASL Civitanova Marche;

c) Dipartimento di Sanità Alimentare ed Animale, Istituto Superiore di Sanità, Roma.

Introduzione. *Escherichia coli* entero-aggregativi (EAEC) presentano un particolare profilo di adesione alle cellule in coltura e sono considerati come un gruppo distinto di *E. coli* patogeni. Le infezioni da EAEC sono particolarmente frequenti nei paesi in via di sviluppo dove sono state spesso associate a diarrea protratta; sono invece piuttosto rare nei paesi industrializzati, inclusa l'Italia, dove sono generalmente associate a diarrea acquosa di tipo secretivo di breve durata. Viene qui descritto un episodio di tossinfezione alimentare associato ad infezione da EAEC.

Caso clinico. Nel febbraio 2006, si sono verificati due episodi di tossinfezione (16 febbraio e 26 febbraio) presso un