

agriturismo; il primo episodio ha riguardato 14 di 23 commensali (tasso di attacco: 66%), il secondo 16 di 24 (61%). In entrambi la sintomatologia è stata lieve (diarrea in 24 casi, vomito in 15, febbre in 12) e nessun soggetto ha richiesto ospedalizzazione. L'indagine epidemiologica indicava, in entrambi gli episodi, una possibile associazione con il consumo di due tipi di formaggio pecorino prodotto presso lo stesso agriturismo con latte ovino non pastorizzato.

Campioni di feci raccolti da 32 soggetti e da 3 addetti alla preparazione degli alimenti e alla gestione dell'agriturismo risultavano negativi per Salmonella, Shigella, *Y. enterocolitica* e Campylobacter. Ceppi di *E. coli* ottenuti da 13 casi coinvolti nel secondo episodio e dai 3 addetti sono stati esaminati mediante PCR per la presenza di geni di virulenza caratteristici dei principali gruppi patogeni. Da 6 dei 13 casi e da un addetto alla ristorazione è stato isolato *E. coli* entero-aggregativo di sierogruppo O78. Il campionamento di alimenti è stato limitato ai resti del pasto del secondo episodio e ad alcuni alimenti non inclusi nel menù ma conservati nei frigoriferi della cucina. Tutti i campioni sono risultati negativi per la presenza di agenti patogeni comuni (Salmonella, Shigella, *Y. enterocolitica*, Campylobacter, Listeria, Clostridium perfringens). I 2 formaggi pecorini presentavano una carica di *E. coli* superiore a 106 CFU/g, anche se l'esame PCR dava esito negativo per la presenza di geni EAEC.

Conclusioni. L'episodio descritto rappresenta la prima segnalazione di un episodio epidemico di infezione da EAEC in Italia e pone il sospetto di un'origine zoonosica di queste infezioni, finora mai ipotizzato.

183

IDENTIFICAZIONE MOLECOLARE DI MUTAZIONI CONFERENTI RIFAMPICINA E ISONIAZIDE RESISTENZA IN *M. tuberculosis* IN CAMPIONI CLINICI DIRETTI

Miotto P¹, Piana F^{1,2}, Migliori GB³, Penati V², Lacchini C², Cirillo D¹

¹ Unità Batteri Patogeni Emergenti, Istituto Scientifico San Raffaele, via Stamira d'Ancona 20, 20127 Milano

² Istituto Villa Marelli, Ospedale Niguarda Ca' Granda, Viale Zara 81, 20159, Milano

³ WHO collaborating centre FS. Maugeri-Tradate

Introduzione. Data l'importanza dell'individuazione rapida di pazienti infetti da MTB-MDR, obiettivo dello studio è valutare la capacità del test GenoType-MTBDR come strumento di diagnosi rapida di casi MDR in campioni clinici diretti. Per la sorveglianza delle farmacoresistenze su ampia scala, anche in Paesi in cui la coltura non è eseguita in routine, si sta valutando la possibilità di utilizzare un supporto (GenoCard) trasportabile e utilizzabile direttamente in reazione di PCR per determinare farmacoresistenze mediante approccio molecolare.

Metodi. In uno studio prospettico, si sono analizzati 68 campioni clinici diretti con sospetto di TB attiva mediante il test commerciale GT-MTBDR (Hain Lifescience, Nehren, Germany) che sfrutta la tecnologia LiPA e permette la determinazione di rifampicina-/isoniazide-resistenza, identificando mutazioni in *rpoB* e *katG*. L'antibiogramma è stato eseguito mediante MGIT.

Risultati. Dei 68 campioni esaminati, 56 hanno fornito un

pattern di amplificazione ed ibridizzazione tale da permettere un giudizio sulla positività per MTB e sul presunto pattern di sensibilità/resistenza visualizzata come ibridizzazione con probe specifici. 12 campioni (11/12 BAAR-negativi) non hanno sviluppato un profilo di amplificazione atteso o interpretabile. Il test ha individuato 3 campioni MDR, tutti confermati dall'antibiogramma. 4 campioni sono stati identificati come isoniazide-resistenti a seguito dell'identificazione della mutazione AGC315ACC in *katG*. Per 10 campioni BAAR-positivi l'esperimento si è rivelato riproducibile utilizzando materiale fissato su GenoCard.

Conclusioni. Il test ha identificato correttamente 3 campioni MDR. La valutazione della sola mutazione S315T in *katG* ha permesso di individuare il 60% dei campioni fenotipicamente isoniazide-resistenti ed è pertanto insufficiente a garantire sensibilità adeguata per rilevare isoniazide-resistenza. Approcci genetici che hanno come target *rpoB* sono invece strumenti utili per l'identificazione rapida di MTB-MDR in popolazioni selezionate. La GenoCard, di facile inattivazione e trasporto, può favorire l'applicazione di tecniche molecolari per la raccolta dati di rifampicina-resistenza in Paesi in cui la coltura non è eseguibile in routine.

184

STUDI CLINICI RELATIVI AI GENOTIPI gN DI CITOMEGALOVIRUS COME DETERMINANTI DI VIRULENZA DEI CEPPI WILD-TYPE

Pignatelli S., Dal Monte P., Camozzi D., Lazzarotto T., Landini M.P.

DMCSS, Sez. Microbiologia, Università di Bologna, via Massarenti 9, 40138 Bologna.

Introduzione. Gli isolati clinici di HCMV presentano caratteristiche immuno-patogenetiche estremamente differenti, pur avendo circa il 90-95% di omologia a livello genomico. L'infezione da HCMV è in grado di originare un ampio spettro di manifestazioni cliniche, potendo il virus infettare numerosi tipi cellulari, con differenti efficienze replicative, stabilendo infezioni persistenti o latenti. Le differenze biologico-comportamentali dei diversi ceppi *wild-type* di HCMV sono state imputate a variazioni all'interno del genoma virale riguardanti *loci* polimorfici ipervariabili, codificanti per *target* immunologici o prodotti fondamentali per la replicazione e l'architettura virale. Tra i geni candidati a *marker* di polimorfismo e patogenicità si annovera UL73, codificante per la glicoproteina gN del complesso immunogeno di *envelope* gC-II, coinvolto nell'*attachment* e *spread* virale. Isolati clinici di HCMV presentano una delle 7 varianti genomiche di gN, denominate gN-1, gN-2, gN-3a, gN-3b, gN-4a, gN-4b, gN-4c.

Metodi. L'ORF UL73 è stata amplificata dal genoma di HCMV mediante *Nested-PCR* e il genotipo gN determinato mediante sequenziamento e/o *RFLP*. Le popolazioni analizzate nel presente lavoro sono state le seguenti: donatori immunocompetenti con infezione latente da HCMV; trapiantati d'organo solido con infezione in atto da HCMV; neonati con infezione congenita da HCMV. Le distribuzioni ottenute sono state confrontate mediante test del chi-quadro, Mann-Whitney e Kruskal-Wallis.

Risultati. Il confronto tra le diverse frequenze genotipiche riscontrate suggerisce che il genotipo gN-1 possa essere caratterizzato da una ridotta virulenza, mentre le varianti