

appartenenti al gruppo gN-4 rappresenterebbero fenotipi maggiormente virulenti. In particolare il gN-4b ed il gN-4c risulterebbero prognostici di manifestazioni cliniche severe dell'infezione da HCMV.

Conclusioni. Gli studi presentati dimostrano come in ambito clinico, nonché nella pratica per la sicurezza del trapianto e trasfusionale, possa risultare importante identificare non solo la presenza del genoma virale, ma anche il ceppo virale di appartenenza, informazione a valore prognostico nel corso del monitoraggio diagnostico e terapeutico del paziente con infezione da HCMV.

185

IDENTIFICAZIONE DI *CANDIDA* SPP. E GRUPPI TASSONOMICI CORRELATI MEDIANTE SEQUENZIAMENTO DELLA REGIONE D2 DEL GENE CODIFICANTE LA LSU RIBOSOMALE

Putignani L.¹, Paglia M.G.¹, Bordi E.¹, Nebuloso E.¹, Pucillo L.P.¹, Visca P.^{1,2}

¹Unità di Microbiologia Molecolare, Istituto Nazionale per le Malattie Infettive I.R.C.C.S. "Lazzaro Spallanzani", Via Portuense 292, 00149 Roma, Italy;

²Dipartimento di Biologia, Università "Roma Tre", Viale G. Marconi 446, 00146 Roma, Italy.

Introduzione. All'interno del Phylum degli Ascomyceti il genere *Candida* rappresenta l'agente patogeno più comunemente diffuso e associato a un quadro diversificato di patologie umane. Recentemente, l'incidenza di infezioni fungine ha subito un incremento considerevole legato ad AIDS, trapianti, trattamenti antineoplastici, utilizzo prolungato di cateteri vascolari. La diagnosi di candidosi rimane tuttora attuale, sia per la complessità della diagnosi clinica che per la difficoltà di una corretta identificazione di alcune specie. Riportiamo i risultati di un metodo, basato sulla divergenza della regione D2 del gene codificante la LSU ribosomale, per la identificazione molecolare di asco- e basidiomiceti da campioni clinici.

Metodi. Un gruppo di 39 isolati fungini clinici, affiancati da 14 ceppi di riferimento, sono stati identificati seguendo uno schema operativo standard, dal piastramento al referto, sia mediante saggi fenotipici (RapID e API 20C AUX) che attraverso il metodo di genotipizzazione, utilizzando un approccio di PCR/sequenziamento diretto della regione nucleotidica D2. Le sequenze ottenute sono state caratterizzate mediante interrogazione incrociata di banche dati (GenBank e EMBL) ed il potere discriminatorio del locus D2 nell'assegnazione di specie è stato verificato mediante un'analisi filogenetica comparativa che ha incluso le regioni D1/D2 e D2 della LSU.

Risultati. La risoluzione di specie è stata raggiunta per tutti gli isolati di *Candida* spp. e per generi correlati, nonostante il basso potere discriminatorio del locus D2 prescelto. I risultati sono stati confermati da un'analisi filogenetica che ha convalidato l'accuratezza dell'identificazione anche nei casi di fallimento dell'identificazione fenotipica.

Conclusioni. Il protocollo di identificazione genotipica qui presentato si è rivelato valido nell'identificazione veloce e a basso costo di specie fungine. Combinata a saggi fenotipici preliminari, la identificazione su base genetica può migliorare le procedure utilizzate nell'assegnazione tassonomica di specie fungine di rilevante importanza clinica.

186

PRESENZA DI *CHLAMYDOPHILA PNEUMONIAE* IN CAMPIONI AUTOPTICI CEREBRALI

Cazzavillan S.¹, Segala C.¹, Bevilacqua PA.¹, Bonoldi E.¹, d'Amore EGS.¹, Rattu M.²

¹U.O. Anatomia Patologica,

²U.O. Microbiologia e Virologia, Ospedale San Bortolo, Vicenza, Italia.

Introduzione. *Chlamydomphila pneumoniae* (CP) causa infezioni respiratorie, ma è correlata anche allo sviluppo di aterosclerosi e malattie neurodegenerative. Esperimenti "in vitro" hanno evidenziato che l'infezione da CP induce la migrazione delle cellule infettate (Polimorfonucleati) attraverso la barriera emato-encefalica determinando modificazione dell'espressione di molecole di adesione ed alterazione dei meccanismi di trasporto. In questo studio viene valutata la presenza del DNA ed RNA di CP in tessuti cerebrali post-mortem per mezzo di 4 diverse tecniche.

Metodi. Sono stati esaminati campioni autoptici di corteccia cerebrale temporale in 19 pz (13M/6F, età media 61, tutti positivi per CP a livello vascolare); causa di morte embolia polmonare (4), malattie cardiovascolari (4), dissezione aortica (1), IMA (13) ed emorragia cerebrale e da 4 pazienti giovani deceduti per trauma (2M/2F, età media 19a). Sono state usate tecniche di PCR (gene ompA- nested), immunistochemica (IHC) (anticorpo RR402 vs proteina MOMP), PCR in situ ed RT-PCR in situ (gene e trascritto ompA - single step) e sequenza (ABI PRIMS 310 Genetic Analyzer, CA, USA). Come controllo sono state usate cellule HEP-2 infettate da CP in coltura.

Risultati. CP era presente in IHC e PCR in situ in 16 su 19 campioni, e in 14 su 19 mediante RT-PCR in situ e PCR; I controlli erano tutti negativi. L'analisi di sequenza ha confermato il gene ompA di CP (Bal-16 TWAR183).

Conclusioni. Nel nostro studio in 16 su 19 campioni cerebrali è riscontrabile il DNA di CP, in 14 su 19 l'RNA indice di espressione o di vitalità di CP. I nostri dati suggeriscono che il riscontro di CP potrebbe essere associato a una infezione cronica a cui potrebbero essere legate, a lungo termine, situazioni di neuroinfiammazione e sviluppo di patologie neurodegenerative. Ulteriori dati in vitro ed in vivo sono necessari per confermare questa ipotesi.

187

INTERAZIONE FRA DNA BATTERICO E MEMBRANE PER EMODIALISI: UN MODELLO "IN VITRO"

Cazzavillan S.¹, Ratanarat R.³, de Cal M.³, Zoppelletto M.², Grillone R.³, Corradi V.³, d'Amore EGS.¹, Ronco C.³, Rattu M.²

¹U.O. Anatomia Patologica,

²U.O. Microbiologia e Virologia,

³U.O. Nefrologia, Ospedale San Bortolo, Via Rodolfi 36100 Vicenza, Italia.

Introduzione. I pazienti dializzati con patologia renale presentano una situazione infiammatoria cronica che contribui-