

sembra appartenere alla specie *Mycobacterium bovis*; la tipizzazione è tuttora in corso. Questo episodio di probabile trasmissione interumana, verificatosi in un'area pressoché indenne da tubercolosi bovina, può rappresentare, qualora completamente chiarito, un evento degno di attenzione al fine dell'adozione di adeguate norme di prevenzione. La tipizzazione dei ceppi con metodi molecolari potrà meglio contribuire alla identificazione della catena di trasmissione ed alla conoscenza delle caratteristiche biologiche degli isolati.

## P114

### PRESENTAZIONE DA UN AVIUM COMPLEX: PRESENTAZIONE DI UN CASO CLINICO

Caola I., Sella D.\*, Dalpiaz A.\*, Guerzoni M.L.\*, Sartori R., Caciagli P.

Lab. Microbiologia e Virologia, Osp. S. Chiara, Trento

\* U.O. Pneumologia, Ospedale S. Chiara, Trento

**Introduzione.** Nelle persone immunocompetenti la pneumopatia da micobatteri non tubercolari è rara, di difficile definizione diagnostica e comporta una gestione terapeutica complessa, prolungata, dall'esito talora incerto. I micobatteri appartenenti al complesso MAC (*Mycobacterium avium* complex) sono i patogeni più frequentemente responsabili. Per la diagnosi, i dati microbiologici indispensabili sono la positività di almeno due esami colturali dell'espettorato oppure di almeno un broncoaspirato, in contesto clinico-radiologico compatibile. La sintomatologia, aspecifica, può richiamare tutte le broncopneumopatie croniche infettive. Gli aspetti radiologici possono essere indistinguibili da quelli della tubercolosi polmonare oppure caratterizzati da broncochiectasie, in frequente associazione con opacità focali, noduli o micronoduli.

**Caso clinico.** Pneumopatia da MAC in uomo di 64 anni, immunocompetente, non fumatore, con storia clinica di riacutizzazione bronchitiche recidivanti, spesso accompagnate da emoftoe, esordita circa 7 anni prima. Nel corso dei vari ricoveri ospedalieri, il paziente è stato riconosciuto portatore di broncochiectasie medio polmonari bilaterali accompagnate da piccole aree di consolidamento parenchimale. Dai numerosi esami colturali dell'espettorato e dal broncoaspirato sono isolati ripetutamente *S. aureus* e *H. influenzae* spesso in associazione; la coltura per micobatteri è risultata sempre negativa. In corso di ennesima riacutizzazione bronchitica l'esame colturale del lavaggio bronchiolo-alveolare (BAL) ha rivelato la presenza di MAC. Poiché l'antibiotico-terapia aspecifica, già adottata nel contempo, aveva determinato un netto miglioramento, si ritenne clinicamente non conclusivo l'isolamento ottenuto. Nel BAL prelevato ad un controllo broncoscopico successivo si è confermata la presenza di MAC, avvalorando la diagnosi di micobatteriosi polmonare non tubercolare. I MAC sono stati isolati poi anche da diversi campioni di espettorato. Il paziente è in tgrattamaneto, previsto della durata complessiva di almeno 18 mesi, con claritromicina, etambutolo e rifabutina. Non è dato sapere con certezza se la pneumopatia da MAC sia insorta su bronchiectasie preesistenti e misconosciute, oppure se queste si siano formate in conseguenza della infezione da micobatteri.

**Conclusioni.** Il caso osservato pone in risalto la necessità di ricercare con accuratezza i MOTT, soprattutto su prelievi broncoscopici, nei pazienti immunocompetenti affetti da bronchiectasie che presentino riacutizzazioni bronchitiche frequenti. Il contributo del microbiologo risulta fundamenta-

le nel supportare il clinico nella definizione di diagnosi difficili e complesse.

## BIBLIOGRAFIA

1. Catanzaro A., Daley C.L., Guets eds. Lung disease due to Nontuberculous Mycobacterial Infections. Clin Chest Med 2002;23:529-686

## P115

### DETECTION OF ETHAMBUTOL-RESISTANT MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS STRAINS BY A PYROSEQUENCING METHOD TARGETING EMMB CODON 306 VARIATIONS

Isola D.\*, Pardini M., Varaine F., Fattorini L., Orefici G., Meacci F., Trappetti C., Oggioni M.R., the LONG-DRUG study group and Orrù G\*.

\* Università degli Studi di Cagliari -

Dip. Scienze Odontostomatologiche -

O.B.L. Oral Biotechnology Laboratory - Cagliari

Resistance to ethambutol (EMB) in *Mycobacterium tuberculosis* strains has been assigned to an operon, *embCAB* encoding arabinosyl transferases, the putative targets of the drug. Mutations in the *embB* gene lead to resistance to EMB in *M. tuberculosis*. The majority of mutations described so far that lead to EMB resistance mapped to codon 306.

Using the pyrosequencing technology we analysed a 24 bp region of the *embB* gene corresponding to codon 306 to 313 in 29 clinical isolates. A suspension of heat-inactivated bacterial cells was used for PCR amplification of a 344 bp fragment of *embB* using a forward 5' biotinylated primer. The biotinylated PCR product was immobilized to streptavidin-coated beads. The beads were transferred to a filter plate and single stranded DNA was separated by subsequent steps: vacuum filtration and denaturation by a specific denaturation solution, following the standard protocol. The single strand template was annealed at 60°C for 5 minutes with sequencing primer (OG 242). The samples were sequenced on a PSQ 96 System and analysed with SQA software. In 29 *M. tuberculosis* clinical isolates, 9 (31%) contained mutations in *embB* at the 306 codon with 3 different alleles. In particular the observed mutations were: ATG306AT<sub>A</sub> (4), ATG306AT<sub>C</sub> (3) and ATG306GT<sub>G</sub> (2).

Results demonstrate that this method is able to detect *embB* mutations in very short time (max 5 hours for 96 samples) and represents a valid molecular method to predict resistance to EMB in *M. tuberculosis* clinical isolates.

The LONG-DRUG study group is composed of Marco R. Oggioni, Francesca Meacci, Università di Siena, Francesco Checchi, Epicentre Paris, Graziella Orefici, Manuela Pardini, Lanfranco Fattorini, Istituto Superiore di Sanità Roma, Peter Andrew, Mike Barer, University of Leicester, Heinz Rinder, University of München, Sabine Rüsck-Gerdes, Stefan Niemann, Research Centre Borstel, Germano Orrù, Università di Cagliari, Francis Varaine, Médecins Sans Frontières Paris, and Thierry Jarosz 3Es Paris. The LONG-DRUG study is supported by EC grant QLK-CT-2002-01612.