

stici rivolti all'analisi genomica qualitativa e quantitativa. Scopo del nostro studio è stata la messa a punto di un sistema diagnostico che associa una tecnica di estrazione automatica di DNA ad un'amplificazione genica di tipo Real Time per l'analisi di campioni di liquido cerebrospinale.

**Metodi.** Sono stati analizzati 154 campioni di liquor prelevati da Febbraio 2005 a Febbraio 2006 da pazienti affetti da patologie acute e croniche del sistema nervoso afferenti al Policlinico "Umberto I" di Roma.

I campioni sono stati processati per l'estrazione degli acidi nucleici mediante un sistema automatico e il DNA ottenuto è stato sottoposto ad analisi mediante Real Time PCR di tipo Taq - Man per l'identificazione di HSV-1, HSV-2, EBV, HCMV, HHV6. Un sistema di PCR Nested è stato impiegato per l'identificazione di VZV.

**Risultati.** Dei campioni analizzati 118 (76.6%) sono risultati negativi ai virus erpetici testati e 36 (23.4%) positivi rispettivamente a: 11 VZV, 7 HSV-1, 4 HSV-2, 7 HHV6, 4 EBV, 1 EBV ed HSV-2, 1 VZV ed HHV6 e 1 HCMV ed EBV. Tempo di refertazione 3 ore dall'arrivo del campione clinico.

**Conclusioni.** Nel sistema da noi studiato l'automazione della fase di estrazione associata all'amplificazione di tipo Real Time ha permesso di ottenere risultati accurati con elevata rapidità di esecuzione ed aumento dell'efficienza diagnostica.

194

#### RILEVAZIONE MOLECOLARE DELLE RESISTENZE DI MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS IN CAMPIONI CLINICI

Zara F.<sup>1</sup>, Meacci F.<sup>2</sup>, D'Amato V.<sup>2</sup>, Troupioti P.<sup>3</sup>, Sarassi A.<sup>3</sup>, Brerra R.<sup>1</sup>, Pardini M.<sup>4</sup>, Orrù G.<sup>5</sup>, Ciusa M.L.<sup>5</sup>, Pagani L.<sup>1</sup>, Orefici G.<sup>4</sup>, Fattorini L.<sup>4</sup>, Oggioni M.R.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Sez. Microbiologia, Dip. SMEC, Università di Pavia, Via Brambilla 74, 27100 Pavia

<sup>2</sup>La.M.M.B., Dip. Biologia Molecolare, Università di Siena, Policlinico Le Scotte, Via Bracci, 53100 Siena

<sup>3</sup>AOV Azienda Ospedaliera Valtellina e Valchiavenna Presidio di Sondalo, Via Zubiani 33, 23039 Sondalo,

<sup>4</sup>Istituto Superiore di Sanità, Viale Regina Elena 299, 00161 Roma,

<sup>5</sup>O.B.L., Università di Cagliari, Via Binaghi 4, 09121 Cagliari.

**Introduzione.** La selezione di mutanti di resistenza ad isoniazide e rifampicina è generalmente la causa di fallimenti terapeutici e del prolungato decorso clinico delle infezioni da *Mycobacterium tuberculosis*.

Pertanto sono necessari metodi molecolari utili ad una rapida rilevazione di tali mutazioni.

**Metodi.** 103 escreti, raccolti da 103 pazienti ospedalizzati ed ambulatoriali presso l'Azienda Ospedaliera di Sondalo nel periodo gennaio 2005 - gennaio 2006, sono stati decontaminati con NALC-NaOH e valutati mediante esame batterioscopico, coltura in Lowenstein-Jensen e MGIT 960. L'analisi molecolare è stata effettuata, dopo valutazione dell'idoneità del campione, con PCR qualitativa con target IS6110, real time PCR con sonde lineari FRET e tipizzazione con MIRU. L'antibiogramma per farmaci di seconda scelta è stata eseguito secondo protocolli standard.

**Risultati.** Con i metodi molecolari, la mutazione *katG315*

associata alla resistenza ad isoniazide è stata rilevata nel 15,4% dei campioni analizzati e nel 22,3% dei casi è stata evidenziata la mutazione *rpoB531* responsabile della rifampicina-resistenza. In 4 campioni la PCR real time sul gene *rpoB* ha evidenziato una popolazione mista (allele wild type e allele mutato).

I metodi molecolari e fenotipici hanno dato risultati sovrapponibili nel 97,4% dei casi per la resistenza ad isoniazide e nel 96% dei casi per la resistenza a rifampicina.

**Conclusioni.** L'analisi dei risultati ottenuti evidenzia una ottima concordanza tra i dati clinici, microbiologici e le caratterizzazioni molecolari, mostrando che l'approccio integrato colturale e molecolare può essere un utile strumento per la valutazione clinica e la gestione del paziente con tubercolosi.

195

#### INFEZIONE DA H. PYLORI: RUOLO DELLE INDAGINI MICROBIOLOGICHE ED ESPERIENZA SULLA SENSIBILITÀ AGLI ANTIBIOTICI

Basaglia G.<sup>1</sup>, Cannizzaro R.<sup>2</sup>, Sperandio P.<sup>1</sup>, Stocco Calzavara S.<sup>1</sup>, Pancino A.<sup>1</sup>, Fornasari M.<sup>2</sup>, Lacchin T.<sup>2</sup>, De Paoli P.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>UO di Microbiologia, Immunologia e Virologia

<sup>2</sup>UO di Gastroenterologia Oncologica

Centro di Riferimento Oncologico, Istituto Nazionale Tumori, IRCCS, Via Pedemontana Occ., 12, 33081 Aviano (Pordenone).

**Introduzione.** L'infezione da *Helicobacter pylori* è stata negli anni studiata sotto vari aspetti. E' ben nota la sua associazione con gastrite cronica, ulcera duodenale e gastrica, adenocarcinoma e MALT linfoma gastrici. Le indagini microbiologiche svolgono per questa infezione un ruolo importante sia dal punto di vista diagnostico che di ricerca (ruolo e indicazioni sono stati ripresi anche dal recente *Maastricht 3 Consensus Report*, 2005). Molti di questi aspetti sono stati da noi studiati e pubblicati. Nel controllo delle patologie associate riveste grande importanza la sensibilità di *H. pylori* agli antibiotici. Scopo del presente studio è di raccogliere tutti i dati sugli antibiogrammi eseguiti nel nostro Laboratorio per offrire un quadro epidemiologico in riferimento ai pazienti seguiti nel nostro Istituto.

**Metodi.** Sono stati studiati i ceppi isolati, nell'arco di 8 anni (1998-2006), da 123 pazienti afferenti all'UO di Gastroenterologia Oncologica del nostro Istituto sintomatici per patologia *H. pylori* associata o soggetti a rischio per lesioni neoplastiche. L'antibiogramma è stato eseguito con E-test per metronidazolo, claritromicina e amoxicillina e, negli ultimi 2 anni, per tetraciclina e levofloxacina.

**Risultati.** La percentuale delle resistenze per paziente è risultata: metronidazolo 59.8% (73/122), claritromicina 52.8% (65/123), amoxicillina 0% (0/122), tetraciclina 0% (0/51) e levofloxacina 24% (12/50).

**Conclusioni.** La nostra casistica rileva per metronidazolo e claritromicina percentuali elevate di resistenza, per levofloxacina tali percentuali sono più contenute e non sono rilevate invece per amoxicillina e tetraciclina. I dati trovano riscontro con quanto riportato in Letteratura. Per quanto riguarda in particolare le elevate percentuali relative a metronidazolo e claritromicina queste sono giustificabili tenendo