

Autori concludono che nelle duplici e triplici coinfezioni da HBV, HCV e HDV i pattern virologici sono variabili, fluttuanti e che una corretta diagnosi di attività delle infezioni da HBV e HCV, per stabilire la strategia terapeutica più corretta, può essere fornita solo da un monitoraggio serrato delle viremie nel tempo.

Sun C, Jin XL, Xiao JC. Oval cells in hepatitis B virus-positive and hepatitis C virus-positive liver. *Histopathology*. 2006 Apr; 48(5): 546-55.
Studio ultrastrutturale per evidenziare e localizzare la pre-

senza delle cellule ovali nelle cirrosi da virus dell'epatite C e B, mediante immunomicroscopia elettronica con marcatori di differenziazione epatocitaria e marcatori di totipotenza (CD34). Cellule ovali sono state identificate nei duttoli biliari proliferanti di entrambi i tipi di cirrosi, sia da virus B che C. Tali cellule esprimevano in entrambi i tipi di cirrosi solo marcatori di differenziazione in senso epatocitario. Con la progressione della flogosi, il numero di cellule ovali aumentava significativamente, a testimonianza di un ruolo chiave svolto da tali cellule nei processi di rigenerazione patologica del tessuto epatico, come accade nella cirrosi.

MYCOBACTERIOLOGICAL news

**BOLLETTINO A CURA DEL GRUPPO DI LAVORO MICOBATTERI AMCLI GlAMic
Prof. Ferruccio Mandler**

MYCONEWS ANNO 6; NUMERO 1: GENNAIO-FEBBRAIO-MARZO 2006

www.MycobacToscana.it-<http://digilander.libero.it/CRRM>,<http://www.ao-careggi.toscana.it/microbiologia/CRRM>
www.amcli.it
www.italbioforma.com

SELEZIONE BIBLIOGRAFICA

Biologia molecolare - batteriologia: aspetti non molecolari - igiene - immunologia sierologia - terapia, farmaci, azione in vitro-clinica - Notizie disordinate

BIOLOGIA MOLECOLARE

Sanguinetti M, Novarese L, Posteraro B, Ranno S, De Carolis E, Pecorini G, Lucignano B, Ardito F, Fadda G. Use of microelectronic array technology for rapid identification of clinically relevant Mycobacteria-*J Clin Microbiol* 2005; 43(12): 6189-6196.

Gli AA dell'Università Cattolica e del Bambin Gesù di Roma pubblicano: "Abbiamo sviluppato un nuovo metodo basato su tecnologia array microelettronica nanochip per la identificazione delle diverse specie micobatteriche. rRNA geni amplificati con PCR ottenuti da 270 colture MGIT positive sono state ibridizzate con probes selettivi per specie ed i risultati sono stati in accordo con quelli ottenuti con i metodi convenzionali. Il sistema risulta rapido ed accurato ed apre nuove prospettive nella diagnostica clinica". Ricaviamo dal lavoro i seguenti particolari:

*il metodo impiega Nanochip Molecular Biology Workstation (Nanogen Inc., San Diego CA) e lo strumento impiega un microchip semiconduttore che incorpora un 10-by-10 array di microelettrodi rivestiti con uno strato permeabile contenente streptoavidina per il trasporto rapido e la concentrazione di molecole di acido nucleico negativamente caricate attraverso una selettiva applicazione di un bias elettronico positivo idoneo a selezionare. L'acido nucleico va indotto immobilizzato con diretto attacco alla strato di permeabilizzazione e posto a ibridizzare con un acido nucleico e la identificazione si esegue con probes fluoresceinati. La regione 205bp è stata amplificata.

*il lavoro è stato compiuto su probes multipli specie selet-

tivi rivolti alla epidemiologia delle micobatteriosi;

*i risultati ottenuti riconfermano le osservazioni di Westin et al (2001) con i limiti della ricerca dei probes idonei;

*è possibile saggiare 100 test simultaneamente
La tecnica è dettagliatamente esposta

Piersimoni C, Olivieri A, Benacchio L, Scarparo C. Current perspectives on drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* complex: the automated non-radiometric systems. *J Clin Microbiol* 2006; 44(1): 20-28. La minirivista passa in rassegna i sistemi esistenti. *Bactec MGIT 960, MB/BacT, Versa Trek con analisi di risultati, modalità, letteratura.* Ai lettori di queste NEWS che ovviamente rimandiamo al testo per una conoscenza precisa riportiamo le valutazioni conclusive del lavoro. È responsabilità del microbiologo di assicurare che un valido controllo di qualità venga eseguito di routine in modo da valutare le procedure, l'affidabilità dei reagenti e l'efficienza del personale. Un elemento critico del controllo di qualità è la selezione di ceppi di referenza geneticamente stabili per i quali i risultati di sensibilità sono ben documentati. In questo contesto l'impiego del ceppo H37Rv(ATCC 27294) è raccomandato in modo corrente da CLSI. Inoltre quando si saggiavano ambedue le concentrazioni critiche (bassa) ed alta il ceppo ideale di riferimento dovrebbe essere uno in grado di crescere a bassa concentrazione ma sensibile alla concentrazione elevata. Sfortunatamente questo ceppo di riferimento utile a questo proposito non è disponibile. Alternativamente ceppi isolati in laboratorio con le caratteristiche sopra citate possono venir impiegati ma per motivi di sicurezza l'uso di questi ceppi spesso multi drug resistenti non è raccomandato. I test del controllo di qualità dovrebbero venir eseguiti almeno una volta alla settimana nei laboratori che eseguono i test, giornalmente o settimanalmente o sempre nel caso che un isolato venga testato. La partecipazione in un controllo di qualità esterno inclusi MTC ceppi a basso livello di resistenza all'INI e resistenza ad altri farmaci di prima linea è fortemente raccomandata. In più con l'adozione dei nuovi metodi di test i laboratori dovrebbero validare i risultati del test eseguendo il test corrente sotto indagine ed i nuovi metodi in parallelo per

una serie di pazienti. Più tardi i risultati dei test di sensibilità dovrebbero venir controllati per diversi mesi testando isolati singoli con altri metodi, se disponibili, o rivolgendosi ad un centro di riferimento. Isolati selezionati dovrebbero includere ceppi MTC sensibili e resistenti e così indagare per presenza ME e VME (major e very major error). In conclusione i test citati sono candidati a rimpiazzare il sistema radiometrico e il più consigliato appare il MGIT 960.

Takakura S, et al. Rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* in respiratory samples by transcription reverse transcription concerned reaction with an automated system. J Clin Microbiol 2005; 43(11): 5435-5439. Citiamo il lavoro di AA giapponesi in quanto trattasi di un metodo nuovo o originale. Hanno valutato la performance transcription-reverse transcription (TRC) per il rilievo di Mt complex (MTC) 16S r RNA in campioni clinici. TRC è un nuovo metodo che permette un monitoraggio rapido e completo real time della sequenza isotermica RNA amplificata senza procedure di postamplificazione. Il limite di detenzione riguarda un organismo per 100 ml di sputo. Il metodo (riprodotto e schematizzato nel testo) è basato su amplificazione isotermica a 43°C con transcriptase e reverse transcriptase in presenza di un probe attivante una fluorescenza intercalante (INAF). La misura della fluorescenza si esegue con un detector dedicato e richiede 30 min. La specificità del metodo è stata dimostrata con assenza di segnali positivi per MNT. Su 72 campioni positivi in coltura la sensibilità è stata del 72% e la correlazione con AMPLICOR è stata del 95%. Una minor sensibilità rispetto ad AMPLICOR è attribuita al fatto che vengono rivelati i bacilli vivi. Ritengono il metodo conveniente per l'uso clinico.

Tobler NE, Pfunder M, Herzok K, Frey JE, Altwegg M. Rapid detection and species identification of *Mycobacterium* spp. using real-time PCR and DNA-Microarray. Journal of Microbiological Methods 2005; 10: 016 Epub before the print.

Si presenta da parte di AA svizzeri di Zurigo e Lucerna un concetto "proof of principle" per la identificazione di 37 diverse specie di *Mycobacterium* impiegando 5' esonucleasi real time PCR e DNA microarray basata sulla regione del 65kDa heat shock protein. Con i probes PCR impiegati, uno complementare a tutte le specie micobatteriche, l'altro specifico per il complesso Mt, 34 specie sono state classificate propriamente con la PCR real time. Dopo la reamplificazione e l'ibridazione con un Microarray DNA tutte le specie hanno presentato un pattern specifico. Tutte le 10 colture positive hanno presentato una PCR real time positiva con il probe del genere. Dopo la reamplificazione e l'ibridazione sei campioni sono stati con ambiguità identificati. Un campione ha mostrato una mescolanza di tre aspetti specie specifici ed il sequenziamento di 16S rRNA ha confermato la presenza della mescolanza. I risultati della ibridazione di tre campioni non hanno potuto venir interpretati in quanto il segnale del background non era sufficiente. Due campioni considerati come negativi (LAL reagent Water (Cambrex) e DNA di *Candida albicans*) non hanno dato segnali di genere né di PCR del complesso tb. Basandosi su questo metodo gli AA lo ritengono promettente per la rapida identificazione delle diverse specie micobatteriche con il vantaggio della possibile identificazione delle infezioni miste. Il lavoro è interamente consultabile, anche nella parte tecnica (PDF 348K), su www.sciencedirect.com

www.sciencedirect.com, puntualizzando il nome della rivista.

Kocagoz T, Saribas Z, Alp A. Rapid determination of Rifampin resistance in clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis* by real-time PCR. J Clin Microbiol 2005; 43(12): 6015-6019.

La PCR real-time è stata impiegata per determinare la RFM resistenza su 96 isolati RFM resistenti e 23 RFM sensibili. La regione 305-hp includente la 81-bp regione determinante la resistenza di rpoB è stata amplificata. Due paia di probes ibridanti che coprivano le più frequenti mutazioni poste in rpo regioni 526-531 e 513-516 sono state impiegate. I risultati sono stati comparati a quelli ottenuti con il metodo delle proporzioni. La PCR real time ha presentato una sensibilità del 92.7% ed una specificità del 100%. Il metodo è risultato molto rapido e permette la valutazione in tempi brevissimi.

Cacho Calvo J et al. Ten-year population-based molecular epidemiology study of tuberculosis transmission in the metropolitan area of Madrid, Spain. Int J Tuberc Lung Dis 2005; 9(11): 1236-1241.

L'epidemiologia della TB nella popolazione urbana sta cambiando. Unendo tecniche epidemiologiche convenzionali con DNA fingerprinting si può aumentare la nostra comprensione sulle modalità di trasmissione della malattia. Uno studio retrospettivo è stato condotto dal 1992 al 1998 a Madrid e prospettico dal 1999 al 2001. La popolazione indagata includeva con coltura positiva dati clinici e demografici. Tutti i ceppi sono stati sottoposti a RFLP e i pazienti clusterizzati o meno con analisi univariata e regressione logistica. Dei 444 pazienti studiati l'età giovanile è risultato il fattore di rischio assieme ai casi con versamento pleurico. Un legame epidemiologico è stato ritrovato nel 37.8% dei casi clusterizzati. Il rilievo dell'età e dell'interessamento pleurico può aiutare nell'aggiustare il controllo della TB e le strategie di contatto.

Rajender Rao K, Kauser F, Srinivas S, Zanetti S, Sechi LA, Ahmed N, Hasnain SE. Analysis of genomic downsizing on the basis of region-of-difference polymorphism profiling of *Mycobacterium tuberculosis* patient isolates reveals geographic partitioning. J Clin Microbiol 2005; 43(12): 5978-5982.

(abstract) *Mycobacterium tuberculosis*, l'agente eziologico della TB, ha perso molte regioni coding e noncoding del suo genoma nel corso della sua evoluzione. Abbiamo eseguito l'analisi delle regioni di diversità (region-of-difference RD) usando genotipizzazione PCR basata di 131 isolati clinici di Mt ottenuti da quattro diversi paesi, precisamente India, Perù, Libia e Angola. I nostri studi hanno rivelato che i patterns RD sono spesso distinti per i ceppi circolanti in specifiche regioni geografiche e possono venir impiegati per tracciare la provenienza e la diffusione di un isolato dal suo reservoir primitivo. Descriviamo i nostri rilievi che dimostrano che nessun isolato dei quattro paesi (n=131) presentava tutti i 15 RD sia perse che trattenute. La delezione 1 tuberculosis specifica (TbD1) è stata trovata conservata nel 23% degli isolati indiani, indicante la possibile origine ancient, RD9 è risultata la regione la più conservata, RD11 quella più perduta e RD6 la più variabile fra gli isolati della nostra collezione indipendentemente dalla regione geografica. In contrasto a precedenti report i nostri risultati dimostrano che la perdita di RD1 non risulta correlata con il potenziale di virulenza del Mt, dal momento che gli isolati dell'India (n=30) da noi esaminati provenivano da amma-

lati ed avevano perso la loro regione D1. I nostri risultati illustrano ulteriormente che la conservazione intatta della regione RD5 può essere associata con un'augmentata virulenza dell'organismo. Questo studio chiarifica che RDs nel genoma del Mt è geograficamente distribuito e specifico e può possibilmente venir associato con lo spettro di virulenza. Lavoro proveniente dall'India in collaborazione con AA di Sassari.

Hazbon MH, et al. Role of embB codon 306 mutations in *Mycobacterium tuberculosis* revisited: a novel association with broad drug resistance and IS6110 clustering rather than ethambutol resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49(9): 3794-3802.

Mutazioni nella posizione 306 di embB (embB306) sono state proposte come marker della etambutolo resistenza di Mt; tuttavia recenti reports delle mutazioni di embB306 negli isolati etambutolo sensibili hanno posto la questione del ruolo biologico di questa mutazione. È stato eseguito uno studio su 1020 isolati clinici di Mt di diverse origini geografiche per valutare la associazione fra embB306, farmaco resistenza e posizionamento genetico. Il 10% di questi isolati contenevano una mutazione in embB306 e di questi solo 55 erano etambutolo resistenti. Mutazioni in embB non erano associate a particolari tipo di farmaco resistenza o legate a qualche gruppo genetico. In ulteriori indagini è stato rilevato la associazione tra embB306 e resistenza a qualche farmaco per cui per gli AA tale mutazione non è legata ad etambutolo resistenza ma può predisporre in genere a sviluppo di resistenze e quindi a conseguente trasmissione di queste. Lavoro svolto a Newark, New Jersey, USA.

Yang Z, et al. Simultaneous detection of isoniazid, rifampin, and ethambutol resistance of *Mycobacterium tuberculosis* by a single multiplex allele-specific polymerase chain reaction (PCR) assay. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2005; Oct 19 (Epub ahead of print).

Descrizione di un metodo multiplo allele specifico PCR (MAS-PCR) che permette di riscontrare mutazioni di INI, RFM, Etambutolo in un singolo saggio. Descrizione dei risultati ottenuti con il metodo: studio dell'Università del Michigan, USA su 174 ceppi provenienti dalla Turchia. La correlazione tra il metodo proposto MAS-PCR e PCR è stato del 99.4%, con il metodo fenotipico la correlazione per l'INI del 81.1% e 97.5%, per la RIF del 93.0% e 98.9%. Inferiore per l'EMB.

Giannoni F, Iona E, Sementilli F, Brunori L, Pardini M, Migliori GB, Orefici G, Fattorini L. Evaluation of a new line probe assay for rapid identification of gyrA mutations in *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2005; 49(7): 2928-2933.

Lavoro svolto all'Istituto Superiore di Sanità, Roma. La resistenza del *Mycobacterium tuberculosis* ai fluorochinoloni (FQ) è conseguenza delle mutazioni del gene gyrA. Gli AA hanno sviluppato un probe line ibridante nel quale i probes oligonucleotidi trasportanti la sequenza wildtype gyrA, polimorfismo da serina a treonina (S95T) e varie mutazioni del gyrA sono state immobilizzate su una striscia di microcellulosa ed indi ibridizzate con prodotti PCR marcati con digoxigenina ottenuti da ceppi di Mt. Quando un prodotto PCR mutato è stato impiegato l'ibridazione si è verificata al corrispondente probe ma non con il probe wild-type. Un panel di ceppi di Mt complex 19 ofloxacin

resistenti (OFL-R) e 9 ofloxacin sensibili (OFL-S) sono stati indagati ed i risultati sono stati per il 100% concordanti con quelli della sequenza nucleotidica. Il polimorfismo S95T non è risultato correlato con la resistenza a FQ. Su MIC o terreno solido il nuovo probe line ha correttamente identificato tutti i ceppi OFL-S e l'89,5% dei ceppi OFL-R.

Kremer K, et al fra cui van Soolingen D. Discriminatory power and reproducibility of novel DNA typing methods for *Mycobacterium tuberculosis* complex strains. *J Clin Microbiol* 2005; 43(11): 5628-5638.

In tempi recenti nuovi metodi di tipizzazione sono stati sviluppati che sono più veloci e più facili da praticare rispetto al corrente standard internazionale IS6110 RFLP. Tuttavia non vi è una valutazione sulla utilità riguardo a questi nuovi metodi di tipizzazione ed è grandemente sconosciuta la comparazione con i metodi pubblicati. Nello studio riportato vi è una investigazione su 90 ceppi di Mt complex e 10 non Mt e su 31 campioni di DNA duplicati per valutare la riproducibilità. La riproducibilità più elevata è stata ritrovata con il metodo MIRU VNTR e fast-ligation mediated PCR (FL i P), seguita dalla seconda generazione di spoligotyping, ligation mediated PCR (LM-PCR), tipizzazione VNTR impiegando 5 loci ripetuti identificati al Queens University of Belfast (QUB VNTR) e la speciazione PCR Amadio. Scarsa riproducibilità era associata con tipizzazione fluorescente amplified fragment length polymorphism che è stata eseguita in tre diversi laboratori. Il metodo è stato ordinato per la più elevata discriminazione con l'indice discriminativo di Hunter-Gaston nel modo seguente: tipizzazione QUB VNTR, tipizzazione MIRU-VNTR, FliP, LM-PCR e spoligotyping. Gli AA concludono che ambedue i metodi di tipizzazione e il metodo FliP sono metodi rapidi, molto vevoli, discriminativi epidemiologicamente validi per la tipizzazione di Mt e che la tipizzazione VNTR sarà nel prossimo futuro il metodo di tipizzazione epidemiologica di scelta. Al report del lavoro condotto a Bilthoven Olanda che si è avvalso di collaboratori Inglesi, Argentini, Francesi, Tedeschi, Bulgari, Nord Irlandesi, e che è sviluppato in modo superbo da consigliarne lo studio a coloro che eseguono o intraprenderanno da noi tale indagine facciamo seguire un breve e telegrafico glossario per la chiarificazione delle tecniche valutate.

Tipizzazione VNTR: VNTR impiega primers dei loci laterali di VNTR per determinare il numero di ripetizione di ciascun locus sulla base della grandezza dei prodotti della PCR. La tipizzazione VNTR è stata eseguita impiegando sei loci valutati secondo la grandezza dei prodotti PCR su gel di agarosio secondo il metodo del Queens Hospital di Belfast (QUB). I sei QUB VNTR loci erano 11°, 11b, 26, 1895, 3336, 3232. In più tipizzazione VNTR è stata eseguita per 12 loci MIRU all'Istituto Pasteur di Lille. In contrasto a QUB VNTR la MIRU VNTR è stata eseguita quattro PCR multiplex e separazione dei prodotti PCR su una piastra di 96 pozzetti ABI 377 sequencer.

Tipizzazione FAFLP: la tipizzazione FAFLP (fluorescent amplified fragment length polymorphism) identifica le differenze di sequenze del genoma. In breve il DNA genomico è digerito da due enzimi di restrizione e gli adaptors sono legati ai frammenti di restrizione. La PCR viene eseguita con primers marcati diretto verso gli adaptors ed i prodotti PCR sono separati su un gel di poliacrilamide e rivelati con un sequenziatore automatico Spoligotyping seconda generazione: la prima generazione rivela la presenza di 43 spacers sequences nella regione ripetitiva diretta seguita da una

ibridazione reverse: la seconda generazione spoligotyping rivela la presenza dei 43 spacers tradizionali impiegando oligonucleotidi ottimizzati e 51 nuovi spacers.

Amadio PCR: è un metodo per differenziare le sottospecie entro il Mt complex e determina il polimorfismo di quattro geni indipendenti: la validità della amplificazione PCR e l'analisi varia significativamente a seconda del gene. Rv0648 comporta il 100% di riproducibilità.

Pasca MR, Gugliera P, De Rossi E, Zara F, Riccardi G. mmpL 7 gene of *Mycobacterium tuberculosis* is responsible for isoniazid efflux in *Mycobacterium smegmatis*. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49(11): 4775-7. Lavoro svolto a Pavia, Dipartimento di Genetica e Microbiologia. Il gene 7 mmpL di Mt racchiude una resistenza ipotetica del transporter divisionale e conferisce un livello di elevata resistenza all'INI quando è sovraespresso nel M. smegmatis. Il livello di resistenza diminuisce in presenza di inibitori della pompa di efflusso reserina e carbonil cianide *m*-chlorophenylidrazone. È stato rilevato un efflusso per l'INI legato ad energia nelle cellule di M. smegmatis ed espresse dal gene mmpL 7.

Espy MJ, et al. Real time PCR in Clinical Microbiology: Applications for routine laboratory testing. *Clinical Microbiology Reviews* 2006; 19(1): 165-256.

Dell'ampia, completa, precisa rassegna tecnica ed applicativa eseguita da AA della Mayo Clinic di Rochester, Min, riportiamo per i nostri lettori il paragrafo dedicato ai Micobatteri. "Il tradizionale approccio nella diagnosi delle infezioni micobatteriche giace sull'uso delle colorazioni per il rilievo di bacilli acido resistenti e la crescita in coltura su terreni solidi e liquidi. I Micobatteri isolati dalle colture vanno identificati con analisi biochimiche, probes di acidi nucleici, o sequenziamento di geni 16SrRNA. La coltura e la identificazione così eseguita richiede del tempo, lavoro intenso, ed in alcuni casi manca di sensibilità e specificità. La PCR real time ha la potenzialità di modificare il paradigma corrente della identificazione dei micobatteri diminuendo il tempo di turnaround impiegato per l'identificazione da settimane a ore mantenendo o migliorando sensibilità e specificità diagnostiche.

La maggior parte dei metodi della PCR real time riportati fino ad oggi si focalizzano sul rilievo del *Mycobacterium tuberculosis complex* e non si cimentano nella differenziazione delle specie esistenti entro il complesso. Miller, et al (Miller, et al. *J Clin Microb* 2002; 40: 4143-7) hanno sviluppato il saggio PCR real time in modo da rilevare rapidamente e specificatamente il Mt complex da campioni respiratori positivi per bacilli ar e da bottiglie BacT/ALERT MP per coltura. Lo stesso gruppo ha dimostrato che un complesso Mt saggiato su 366 campioni respiratori positivi presenta una sensibilità e specificità eguale a quella dell'AMPLICOR PCR (Roche Diagnostic Corporation) e richiede metà del tempo (3 invece di 6 ore). Stremann et al hanno con successo notato che primers sequenziali specifici e i probes della FRET (*) ibridazione rivolti ad un polimorfismo entro i loci *narG*, *oxyR* e *RD1* del complesso Mt, permettono rispettivamente la differenziazione di Mt., M.bovis, M.bovis BCG rispettivamente.

Numerose pubblicazioni si rivolgono al rilevamento dei micobatteri a livello di genere. In uno degli studi più ampi Lachnik et al evidenziano i primers-gene specifici to target il gene 16S rRNA sono stati in grado di rilevare 33 specie dalla coltura. Due set di sequenze specifiche FRET hanno permesso

un differenziazione fra Mt complex e due membri di M. avium complex fra 30 specie analizzate. Il M.intracellulare non è stato distinto in quanto impiega una temperatura di mescolanza indistinguibile da quella di altre specie.

Il rilevamento della resistenza è questione vitale per il trattamento degli ammalati. La PCR real time offre la potenzialità di rilevare le mutazioni genetiche responsabili della farmaco resistenza entro ore da campioni di pazienti in paragone alle due settimane necessarie richieste per i metodi tradizionali di sensibilità. I geni *rpoB* e *katG* sono i targets più comuni del Mt complex utilizzati nei metodi di PCR real time e le mutazioni ben note che si verificano in questi geni sono legate rispettivamente alla resistenza a rifampicina ed isoniazide. Il significato di altri gene targets come *kasA*, *alpC-oxyRv* e *inhA* per la predizione dell'isoniazide resistenza è ancora controverso. Torres et al hanno impiegato due set di probes FRET ibridanti per rivelare le mutazioni *rpoB* in ceppi di Mt rifampicina resistenti ed un altro set di probes FRET ibridanti per rivelare le mutazioni *kafG* in 15 ceppi INI resistenti di Mt. Addizionalmente Garcia de Viedma et al impiegando due sets di probes *rpoB* ed un set di probes *katG* per rivelare le mutazioni *rpoB* e *katG* in tubi singoli su 29 ceppi di Mt isolati. Dal momento che non tutte le mutazioni genetiche conferenti la farmaco resistenza sono ben caratterizzate e pertanto non ricollegabili ad un saggio PCR i metodi di saggio basati sulla coltura sono ancora richiesti. Tuttavia la possibilità di predire la rifampicina e l'INI resistenza due settimane prima dei metodi correnti verso certi isolati rappresentano un grande beneficio nella cura dei pazienti. Un numero di PCR real time è stato eseguito direttamente dai campioni dei pazienti in luogo della coltura. L'estrazione e l'amplificazione degli acidi nucleici direttamente dai campioni del paziente diminuisce il tempo di diagnosi da settimane a ore. Studi addizionali focalizzati alla diagnosi di diverse matrici (p.es sputo, feci) sono richieste. A tutt'oggi solo poche specie correntemente riconosciute sono state testate

(PS:*Per FRET gli AA intendono: 3 modalità di probes, 5' nuclease probe, molecular beacon, ibridation probe. Le 3 tecnologie sono definite FRET anche se consistente di due probe separati)

La parte tecnica della PCR real time è dettagliatamente descritta nel lavoro e a questa si rimanda gli interessati.

BATTERIOLOGIA ASPETTI NON MOLECOLARI

Padilla E, et al. Comparison of the sodium hydroxide specimen processing method with the C18-carbossipropilbetaine specimen processing method using independent specimens with auramine smear, the MB/BacT liquid culture system, and the COBAS AMPLICOR MTB test. *J Clin Microbiol* 2005; 43(12): 6091-6097.

Accanto ai metodi di trattamento citati, che lo studio riporta dettagliatamente, e che sono stati eseguiti su 1468 e 1423 campioni rispettivamente la valutazione dei risultati ha comportato pure la coltura e l'amplificazione con Cobas Amplicor MTB. Sensibilità e specificità riportati per i due metodi sono stati rispettivamente rispetto alla coltura per il primo metodo 68.2% e 99.6% e per la PCR 75.0% e 97.3% e per il secondo metodo rispetto alla PCR 78.0% e 98.0% rispettivamente. Quando i due metodi sono stati paragonati il metodo impiegante C18-carbossipropil betaina ha significativamente aumentato il numero dei campioni microscopicamente negativi e culturalmente positivi ed ha significativamente aumentato la sensibilità della PCR e

diminuito l'entità di inibizione.

Pounder JI, Aldous WK, Woods GL. Comparison of real-time polymerase chain reaction using the Smart Cycler and the Gen-Probe amplified *Mycobacterium tuberculosis* direct test for detection of *M. tuberculosis* complex in clinical specimens. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2006; Jan 16 (Epub ahead the print).

Comparazione fra PCR real time polymerase chain reaction e sistemi diversi genetici di valutazione diagnostica (citati impiego di Smart Cycler instrument e a minor groove binding MGB Eclipsetrade mark probe (Epoch Biosciences, Bothell, WA) e il noto Amplified *M. tuberculosis* direct test. In conclusione per gli AA di Salt Lake City, Utah, USA la sensibilità del saggio PCR si migliora a seconda dei primers e probes impiegati ed il tempo di real time PCR con partenza del campione decontaminato è risultata inferiore alle 3 ore rispetto alle 5 ore di MTD.

Van Deun A, Salim H, Aung KJ, Hossain MA, Chambugoni N, Hye MA, Kawria A, Declerq E. Performance of variations of carbolfuchsin staining of sputum smears for AFB under field conditions. *Int J Tuberc Lung Dis* 2005; 9(10): 1127-33.

Su un tema tecnico centenario, la colorazione ZN i microbiologi di Anversa su una statistica condotta in Bangladesh si sentono di esternare delle novità. La colorazione a caldo di ZN 1% tenuta di routine per 15 minuti è superiore alla colorazione con fucsina alla 0.3% tenuta per 5 minuti la quale è equivalente alla colorazione con ZN 1%. Pertanto la colorazione a caldo con ZN 1% tenuta per 15 minuti è risultata superiore. Esami di routine identificano un maggior numero di positivi.

Elkins MR, et al. Effect of airway clearance techniques on the efficacy of the sputum induction procedure. *Eur Resp J* 2005; 26(5): 904-908.

Lavoro proveniente dall'Australia in cui a seguito di impegno di 59 partecipanti si rileva che le tecniche clearance airway (percussione del torace, vibrazioni, respirazioni profonde) non hanno nessun effetto nella induzione di espettorato (volume e qualità).

Medina E, Ryan L, LaCourse R, North RJ. Superior virulence of *Mycobacterium bovis* over *Mycobacterium tuberculosis* (Mtb) for Mtb-resistant and Mtb-susceptible mice is manifest as an ability to cause extrapulmonary disease. *Tuberculosis* 2006; 86(1): 20-27.

Topi di un ceppo di *Mycobacterium tuberculosis*-resistente (BALB/c) e di un *M. tuberculosis*-sensibile (DBA/2) si sono rivelati più sensibili, o egualmente sensibili, all'infezione da *M. bovis* piuttosto che all'infezione da *M. tuberculosis* se provocata per via iv. L'infezione da *M. tuberculosis* è stata controllata ad un livello approssimativamente stazionario nei polmoni, fegato, milza e rene dei topi BALB/c ed in tutti gli organi con eccezione dei polmoni dei topi DBA/2. I topi DBA/2 infettati con *M. tuberculosis* hanno presentato un tempo di sopravvivenza inferiore rispetto ai topi BALB/c infettati con *M. tuberculosis*. In contrasto l'infezione con *M. bovis* ha ucciso topi di ambedue i ceppi con un tempo di sopravvivenza eguale per ambedue i ceppi. In modo inatteso *M. bovis* ha causato una infezione progressiva e lesioni nel fegato dei topi BALB/c ma non negli organi di quelli DBA/2. Più importante il fatto che il patogeno ha causato infezione progressiva e patologia indotta dall'infezione nei reni e surreni di

ambedue i tipi di topi. Sembra che la malattia provocata nelle surreni possa spiegare perché *M. bovis* causa la morte in ambedue i ceppi di topini avendo lo stesso tempo di sopravvivenza. Lavoro eseguito al Trudeau Institute di Saranac Lake, NY

Dean GS, et al. Minimum infective dose of *Mycobacterium bovis* in cattle. *Infect Immun* 2005; 73(10): 6471-7.

Il lavoro è proveniente dai veterinari di Weybridge, UK. Lo scopo del lavoro è stato quello di determinare la minima dose infettiva del *Mycobacterium bovis* necessaria per stimolare le risposte immuni e per generare la patologia nel bestiame. Quattro gruppi di vitelli (20 animali) sono stati infettati per via tracheale con 1000, 100, 10 o 1 CFU di *M. bovis*. Specifiche risposte immuni gamma interferon (IFN-gamma) e interleukina 4 (IL-4) agli antigeni micobatterici sono state monitorate assieme alla valutazione eseguita due volte al test cutaneo tubercolinico. Autopsie post mortem sono state eseguite e valutati aspetti microbiologici ed istopatologici. Metà degli animali infettati con 1 CFU di *M. bovis* hanno sviluppato patologia polmonare tipica della TB bovina: nessuna differenza è stata osservata alle diverse dosi di *M. bovis*. Tutti gli animali che hanno presentato patologia sono risultati positivi al test tubercolinico ed hanno prodotto risposte a IFN-gamma e IL-4. Non si sono riscontrate diversità nella grandezza del test tubercolinico, IFN-gamma e IL-4 alle diverse dosi infettanti suggerendo che il saggio diagnostico (tubercolina e test IFN-gamma) possono rivelare la malattia presto dopo l'infezione senza riguardo alla dose infettante.

Gali N, Dominguez J, Blanco S, Prat C, Alcaide F, Coll P, Ausina V. Use of a mycobacteriophage-based assay for rapid assessment of susceptibilities of *Mycobacterium tuberculosis* isolates to isoniazid and influence of resistance level on assay performance. *J Clin Microbiol* 2006; 44(1): 201-205.

Standardizzazione e messa a punto di un saggio microtiter eseguito in laboratorio per la determinazione della sensibilità di isolati clinici di Mt all'INI basati sulla tecnologia di amplificazione dei micobatteriofagi. 70 isolati (843 resistenti e 23 sensibili) accertati con Bactec 460 sono stati presi in considerazione. Il meccanismo molecolare della resistenza all'INI, il gene katG e la regione regolatoria mabA-inhA è stata sequenziata. La sensibilità del saggio micobatteriofagico nel rilevare l'INI resistenza è risultato del 86.1%, la specificità ottenuta del 92.6% e l'accuratezza totale del 88.6%. Sono stati considerati i valori di MIC. Tutti gli isolati hanno presentato un elevato livello di resistenza (MIC >= 2 mug/ml) e la concordanza in questa situazione è stata del 100%. In contrasto nel 26.1% dei ceppi a bassa MIC (0.25-1 mug/ml) vi era una cattiva classificazione e vi era presenza di alterazioni nella zona mabA-inhA. Per gli AA il metodo micobatteriofagico può venir usato come metodo rapido di rilievo della INI resistenza sebbene dati a basso livello vanno interpretati con cautela.

IGIENE, IMMUNOLOGIA, SIEROLOGIA

Ferrara G, Losi M, Meacci M, Meccugni B, Piro R, Roversi P, Bergamini BM, D'Amico R, Marchegiano P, Rumpianesi F, Fabbri LM, Richeldi L. Routine hospital use of a new commercial whole blood interferon assay for the diagnosis of tuberculosis infection. *Amer J*

Respiratory and Critical Care Medicine 2005; 172: 631-635.

Molto numerosi compagni da parte del gruppo di operatori di Modena lavori sul tema della diagnosi immunologica della tb. Non potendo relazionare tutti ne abbiamo scelto uno, quello esposto. Razionale: Interferon (IFN) test praticato sul sangue può migliorare il livello corrente della accuratezza diagnostica della infezione tubercolare. Il QuantiFERON-TB Gold (QFT-Gold) è stato impiegato su popolazioni selezionate e presenta una specificità più elevata rispetto al TST. Obiettivi: valutare il test QFT-Gold su pazienti non selezionati e valutare il livello di accordo con il TST. Metodo: Il test è stato eseguito di routine per 8 mesi nel laboratorio di microbiologia e dati demografici, clinici e microbiologici sono stati correlati. Valutazione e risultati principali: Su 318 pazienti 68 (21.4%) hanno presentato un risultato indeterminato. I risultati indeterminati erano significativamente sovrarappresentati in pazienti con TST negativa (28.9% vs 6.6% dei pazienti TST positivi) e sono risultati più frequenti in pazienti che hanno ricevuto terapie immunosoppressive rispetto a quelli che non hanno ricevuto tale trattamento. Dopo aver escluso i risultati indeterminati la concordanza fra QFT-Gold e TST era significativamente più bassa in soggetti BCG vaccinati rispetto ai non vaccinati. In 11 pazienti con tb attiva QFT-Gold ha dato risultati più positivi rispetto a TST (66.7% vs 33.3%). In conclusione: Il QFT-Gold è fattibile nell'uso routinario ospedaliero per la diagnosi di tubercolosi. Come con TST l'immunosoppressione colpisce il test con una frequenza di risultati indeterminati nella popolazione.

Britton WG, et al. Sensitivity of human gamma interferon assay and tuberculin skin testing for detecting infection with *Mycobacterium tuberculosis* in patients with culture positive tuberculosis. Tuberculosis 2005; 85(3): 137-145.

Riferiamo un lavoro sul tema Quantiferon di AA australiani ivi incluso uno della Cellestis la Ditta che ha scoperto-introdotta tale tecnica. L'obiettivo del lavoro di valutare la sensibilità del saggio serico di gamma interferon (Quantiferon-TB -HGIA) per la risposta specifica dei T linfociti e del test tubercolinico (TST) per valutare il rilievo dell'infezione da MT in soggetti a coltura positiva. Sono stati indagati 129 pazienti tb e 100 senza malattia (NTBLD). Ponendo un livello alla positività tubercolinica a 10 mm la sensibilità di HGIA è risultata del 81% in paragone al 89% per TST. Quando si sono riunite ambedue le positività il 96% dei pazienti con TB sono stati evidenziati. Nel gruppo dei pazienti NTBLD il 43% di questi era nato overseas, il 73% era risultato negativo sia per HGIA che TST. La vaccinazione con BCG o il tipo di TB non ha influito sui saggi di sensibilità. Per quelli trattati < di 2 mesi la sensibilità con ambedue i saggi era del 84% ma per quelli trattati per > 2 mesi la sensibilità di TST (90%) tende ad essere più elevata di quella di HGIA (81%). La distribuzione dei risultati di TST nei pazienti TB mostra un picco tra 10 e 25 mm mentre i risultati di HGIA risultano bimodali sia nei pazienti TB che in quelli NTBLD.

Nguyen M, Perry S, Parsonnet J. QuantiFERON-TB predicts tuberculin skin test boosting in U.S. foreign-born. Int J Tuberc Lung Dis 2005; 9(9): 985-991.

Studio compiuto da AA di Standford, California, USA per valutare le coincidenze fra il test cutaneo tubercolinico (TST) ed il QuantiFERON (QFT) su saggi ripetuti. 52 casi

sono stati indagati anche con valutazioni eseguite tre mesi dopo il primo saggio. Boosting è stato considerato il caso di riclassificazione del TST nel passaggio da negativo a positivo. Su 48 casi che hanno completato tutti i test il 75% erano nati fuori dall'USA (92% latino-americani) ed il 58% erano vaccinati con BCG. Inizialmente TST e QFT sono risultati rispettivamente positivi nel 27 e 44% rispettivamente con una concordanza del 67%. Il 29% delle reazioni inizialmente TST negative boosted (virarono al positivo) e dei 10 casi considerati 9 riguardavano soggetti vaccinati con BCG. Boosting (il viraggio al positivo) si verificarono nel 67% dei casi inizialmente QFT positivi -TST negativi. Valutato rispetto al secondo TST il QFT iniziale ha dimostrato una probabilità post-test del 76% ed il boosting ha riguardato il 50% dei casi con discordanza iniziale. In conclusione QFT frequentemente anticipa il viraggio (boosting) del TST. I rilievi eseguiti spiegano le discordanze rilevate fra i due test e rappresentano un'alternativa all'esecuzione seriale del TST (PS: secondo la nostra esperienza il reperire i numerosi casi di boosting rilevati si prestano a varie spiegazioni: test tubercolinico eseguito a troppo breve distanza dalla vaccinazione? rilievi del TST determinato con criteri particolari?)

Zellweger JP, et al. Contact tracing using a new T-cell-based test: better correlation with tuberculosis exposure than the tuberculin skin test. Int J Tuberc Lung Dis 2005; 9(11): 1242-1247.

Studio compiuto da AA di Losanna, Svizzera. In merito ad un paragone fra il test cutaneo tubercolinico (TST) ed il nuovo test basato sulle cellule T (T-SPOT-TB) in soggetti esposti ad infezione da un caso positivo (PTB). Lavoro eseguito in un istituto per alcoolisti ed i risultati analizzati in accordo all'età, vaccinazione pregressa con BCG e livello di esposizione. Non si è riscontrato correlazione fra livello di esposizione e i valori di TST ma i risultati del T-SPOT-TB sono stati significativamente correlati con il livello di esposizione. I contatti che erano stati in precedenza vaccinati con BCG significativamente presentavano un test TST positivo rispetto ai contatti non vaccinati ma non vi è stata influenza della vaccinazione BCG sul TB-SPOT. In conclusione il T-SPOT-TB risulta meglio correlato del TST sul livello di esposizione al Mt e non si confonde con una precedente vaccinazione con BCG. Il test presenta una migliore selezione dei contatti che dovrebbero ricevere un trattamento per una Tb latente.

Kimura M, Comstock GW, Mori T. Comparison of erythema and induration as results of tuberculin tests. Int J Tuberc Lung Dis 2005; 9(8): 853-857.

Citiamo il lavoro di AA giapponesi di Tokio su un tema che molti anni fa è stato oggetto di numerose indagini anche da parte dei vari gruppi italiani allora interessati al tema. Di questi lavori non vi è assolutamente accenno nella bibliografia limitata nel presente lavoro all'era Internet. La distribuzione dei diametri e dell'indurazione è stata paragonata in tre gruppi. 951 tubercolosi, 6139 e 6157 bambini di grado diverso, e 97 volontari classificati come atopici o non atopici sulla base del test cutaneo e dei risultati dell'IgE immunoglobuline. L'eritema e l'indurazione sono risultate strettamente correlate; la distribuzione dei diametri dell'eritema era non modale, la distribuzione dei diametri dell'indurazione era bimodale. L'eritema era considerevolmente superiore dell'indurazione nelle persone considerate atopiche. In conclusione sia l'eritema che l'indurazione appaiono indici

adeguati alla valutazione della sensitività tubercolinica. Tuttavia dato che la maggior parte del mondo usa l'indurazione come indice e virtualmente tutti gli studi della sensitività tubercolinica si basano sull'indurazione vi sono appunto dei vantaggi sull'uso della indurazione. Sarebbe desiderabile di iniziare ampi studi prospettici per valutare se l'eritema o l'indurazione possano essere migliori predittori della malattia e confermare i risultati che l'eritema può essere confuso con l'indurazione nei casi di atopia.

Abebe F, Mustafa T, Nerland AH, Bjune GA. Cytokine profile during latent and slowly progressive primary tuberculosis: a possible role for interleukin 15 in mediating clinical disease. *Clin Exp Immunol* 2006; 143(1): 180-192.

Studio sui livelli delle interleukine (IL), interferon (IFN), gamma tumor necrosis factor (TNF) nel corso della TB primaria progressiva (SPTB) e latente (LTB) nel topo. Eccetto IL4 i livelli delle citochine risultano più elevate nei casi di SPTB che LTB. Nel corso di LTB tutte le citochine sono più elevate nella fase iniziale, durante SPTB IL 15 aumenta significativamente. Di interesse nello studio eseguito le seguenti conclusioni interpretative: la sovraespressione di citochine proinfiammatorie nelle fasi di malattia attiva è ben documentata ma i fattori condizionanti questa sovraespressione non sono noti. Nello studio compiuto vi è stato un aumento contemporaneo di IL-15 con citochine Th1 (IL-12 e IFN-gamma) nel corso di SPTB ma una significativa diminuzione nel corso di LTB. IL9-15 è noto per essere coinvolto in molto stati di malattie proinfiammatorie come artrite reumatoide, sarcoidosi, malattia infiammatoria intestinale, diabete autoimmune, ecc. I nostri risultati suggeriscono che IL-15 ha un ruolo importante nel mediare la malattia attiva nel corso dell'infezione TB. Studio proveniente da Oslo, Norvegia.

Vaerewijck MJM, Huys G, Palomino JC, Swing J, Portaels F. Mycobacteria in drinking water distribution systems: ecology and significance for human health. *FEMS Microbiology Reviews* 2005; 29(5): 911-934.

In contrasto ai ben noti patogeni *M. tuberculosis* e *M. leprae* la gran maggioranza delle specie micobatteriche descritte a tutt'oggi non sono considerate come patogeni obbligati. Il reservoir naturale di questi micobatteri include ambienti acquatici e terrestri. Sotto determinate circostanze per esempio lesioni cutanee, disfunzioni polmonari o immunologiche e malattie croniche questi micobatteri ambientali (EM) possono provocare malattia. EM come *M. avium*, *M. kansasii* e *M. xenopi* sono stati frequentemente isolati dall'acqua potabile e dai sistemi di distribuzione dell'acqua degli ospedali. Formazione di biofilm, stili di vita amebici e resistenza al cloro sono stati riconosciuti come fattori importanti che contribuiscono alla sopravvivenza, colonizzazione e persistenza di EM nei sistemi distributivi dell'acqua. Sebbene la presenza di EM è stata legata ad infezioni nosocomiali e pseudoinfezioni rimane poco chiaro se questi EM sono di rischio per gli immunocompromessi nei sistemi di distribuzione dell'acqua. Lavoro di AA belgi fra cui quelli dell'Istituto di Medicina tropicale di Anversa.

Dubaniewicz A, Kampfer S, Singh M. Serum anti-mycobacterial heat shock proteins antibodies in sarcoidosis and tuberculosis. *Tuberculosis* 2006; 86(1): 60-67. Originale lavoro di AA polacchi e tedeschi della Ditta Lionex Diagnostics. La sarcoidosi (SA) è un disordine mul-

tisistemico granulomatoso di eziologia non nota. Agenti infettivi. *p.es* *Mycobacterium tuberculosis*, fattori genetici ed autoimmuni sono considerati agenti eziologici. Similarità patologiche fra SA e tubercolosi (TB) suggeriscono che *M. tuberculosis* heat shock proteins (Mtb-hsp) sono agenti causali. Per saggiare l'origine "micobatterica" della sarcoidosi da parte degli AA è stata valutata la presenza di anticorpi anti-Mtb-hsp70, -Mtb-hsp65 e Mtb1616 in SA e TB. Analisi degli anticorpi anti-Mtb-hsp è stata eseguita in 37 pazienti con SA, 29 pazienti con TB e 16 pazienti sani con ELISA. I risultati ottenuti hanno dimostrato una più elevata presenza di anticorpi in SA e TB rispetto ai controlli. Gli anticorpi anti-Mtb65 e -Mtb-hsp16 si sono rivelati significativamente più frequenti nei soggetti TB che nei controlli e SA. È stata trovata una percentuale significativamente più elevata di anticorpi anti-Mtb-hsp70 e -Mtb-hsp65 nello stadio. Il in paragone allo stadio I dei pazienti SA. L'analisi dei livelli anticorpali anti-Mtb-hsp ha messo in evidenza livelli anticorpali significativamente più elevati per Mtb-hsp70 in SA e TB rispetto ai controlli. Una più elevata frequenza significativa di anticorpi anti-Mtb70 rispetto a anti-Mtbhsp65 e Mtb-hsp16 è stata ritrovata solo nei pazienti SA. In sommario la frequenza ed i livelli di anticorpi anti-Mtb-hsp70 sono risultati comparabili fra SA e TB e significativamente più elevati rispetto ai controlli e ad altri Mtb-hsp. I dati rilevati suggeriscono un ruolo delle proteine Mtb-hsp70 nella patogenesi della tubercolosi.

Page KR, et al. Mycobacterium-induced potentiation of type I immune responses and protection against malaria are host specific. *Infect Immun* 2005; 73(12): 8369-8380. Lavoro eseguito alla Johns Hopkins di Baltimora. Malaria e TB sono endemiche in varie regioni del mondo e la coinfezione con i due patogeni è comune. Nello studio sono stati indagati gli effetti di una infezione di breve e lunga durata del Mt sul corso di una forma letale di malaria murina in topini resistenti e sensibili. I topini resistenti coinfectati con Mt e *Plasmodium yoelii* presentavano una più bassa parassitemia ed una sopravvivenza aumentata in paragone ai topini infettati con *P. yoelii* da solo. Analisi splenica con microarray ha dimostrato un potenziamento delle risposte immuni di tipo I nei topini coinfectati che era prominente in modo particolare 5 giorni dopo l'infezione con *P. yoelii*. Gli splenociti dei topini coinfectati producevano un più alto livello di interferon gamma e di tumor necrosis factor alfa rispetto agli splenociti di topini infettati con il patogeno solo. È interessante rilevare che la protezione nel topo indotta da Mt contro *P. yoelii* letale è specifica per certi ceppi di animali. In più Mt non aumenta le risposte a IFN gamma in topini sensibili che vengono infettati susseguentemente con *P. yoelii*. I dati ottenuti indicano che Mt induce una risposta potenziatrice immunitaria di tipo I che si associa con la protezione alla malaria letale murina.

Brodin P, et al. Dissection of ESAT-6 System I of *Mycobacterium tuberculosis* and impact on immunogenicity and virulence. *Infect Immun* 2006; 74(1): 88-98. Riportiamo parzialmente il sommario del lavoro che, unitamente ai rilievi citati in notizie disordinate, rappresenta una delle linee di ricerca sui fattori di virulenza in corso all'Istituto Pasteur di Parigi, Unità di Genetica molecolare. "Il sistema di secrezione molecolare ESX-1 del Mt encoded nella regione estesa RD18extRD assicura l'esportazione della proteina ESAT-6 e dei suoi partner, il filtrato

proteico della coltura 10kDa di CFP-10 che risulta assente nel BCG e M. microti. Gli AA hanno sistematicamente investigato l'interessamento di ciascun singolo gene ESX-1 nella secrezione di ambedue gli antigeni, l'immunogenicità specifica e la virulenza. ESX-1 del BCG e dei ceppi di M. microti era più efficientemente immerso nei macrofagi derivati dal midollo rispetto ai controlli e questo può sottolineare per la stimolazione di ceppi portatori di ESX in vivo. L'inattivazione del gene *pe35* (Rv3872) deteriora l'espressione di CFP-10 e ESAT-6 suggerendo un ruolo nella regolazione. La secrezione di ESAT 6 e la immunogenicità specifica erano correlate con un aumentata virulenza nel modello di topo. Solo la perdita di Rv3865 e parte di Rv3866 non colpisce la secrezione di ESAT 6 o l'immunogenicità ma porta alla sua attenuazione. Lo studio compiuto ha permesso di identificare nuovi aspetti della regione *extRD1* del Mt ed esplorare il ruolo nella patogenesi della TB"

Dietrich J, Weddingh K, Andersen P. Prospects for a novel vaccine against tuberculosis. *Vet Microbiol* 2006; 112(2-4): 163-169.

Lo sviluppo di un nuovo ed efficiente vaccino per la tb è stato in questi ultimi 10 anni accelerato in modo evidente basandosi sulla conoscenza del genoma del Mt e la biologia molecolare. È risultata un'identificazione di un notevole numero di antigeni con potenzialità vaccinale. Il momento in via di partenza riguarda la messa assieme di molecole di fusione e cocktails. Questo aspetto richiede un'attenta valutazione sulla immunodominanza esistente nelle diverse popolazioni come l'influenza esercitata dai diversi sistemi di adiuvanti e di preparatori. Il più avanzato di questi vaccini riguarda la fusione tra ESAT6 e Ag85B che valutato su primati sta ora emergendo nella fase sperimentale. Resta necessario in vista dei futuri programmi vaccinali conoscere i motivi degli insuccessi immunologici del BCG e di ottimizzare i vaccini nella loro capacità di considerare la risposta immunitaria provocata da BCG.

TERAPIA, FARMACI, AZIONE IN VITRO

Danelishvili L, Wu M, Young LS, Bermudez LE. Genomic approach to identifying the putative target of and mechanisms of resistance to mefloquine in mycobacteria. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49(9): 3707-3714.

L'emergenza della resistenza micobatterica a vari farmaci enfatizza la necessità di avere a disposizione dei nuovi composti. L'attività della meflochina è stata recentemente descritta e M. avium, M. smegmatis, Mt sono sensibili alla meflochina in vitro ed attività in vivo per M. avium è stata evidenziata. Tentativi di ottenere mutanti resistenti sono falliti e lo studio compiuto da AA della Università di Oregon, USA si sono volti ad indagare con DNA microarray e proteina fluorescente verde i geni interessati. Le indagini sono dettagliatamente riportate e le conclusioni riguardano l'identificazione di due gruppi di geni uno interessato nel trasporto di membrana e l'altro coinvolto nella regolazione della replicazione cellulare.

Lichter M, Rossi M, Mengoni F, Vignola S, Colacchia B, Massetti AP, Kamga I, Hosmalin A, Vullo V, Mastroianni CM. Circulating dendritic cells and interferon-alpha production in patients with tuberculosis: correlation with clinical outcome and treatment response-Clin

Exp Immunol 2006; 143(2): 329-337.

Riportiamo il sommario del lavoro svolto c/o Ospedale La Sapienza, Roma. "Cellule dendritiche (CD) sono state caratterizzate recentemente per avere un ruolo importante per l'inizio ed il controllo della risposta immunologica nell'infezione da Mt. Cellule dendritiche ematiche sono state suddivise in mieloidi (mDC) e plasmacitoidi (pDC), sulla base di differenze dei markers fenotipici e della funzione. Poco si sa in merito alla numerazione e alla valutazione funzionale delle DC circolanti nei pazienti con tubercolosi e la correlazione con il decorso clinico nel periodo di trattamento antitubercolare. Noi abbiamo valutato la conta di mDC e pDC circolanti misurate con il saggio di recente sviluppato di citometria a flusso a piastrina singola basato su TruCOUNT come la produzione di interferon (IFN) alfa dopo stimolazione in vitro con il virus dell'herpes simplex (HSV-1) in 24 pazienti con TB attiva e 37 donatori sani. Il numero assoluto di ambedue i subsets DC erano significativamente diminuiti in pazienti con TB attiva in paragone ai controlli. In modo simile la produzione di INF alfa risultava notevolmente menomata. In 13 pazienti questi parametri erano longitudinalmente stabiliti prima e dopo il trattamento antimicrobico. Fatto di maggiore interesse in tutti i nove pazienti nei quali vi era stata una terapia antimicrobica favorevole vi era stata un significativo e notevole aumento di pDC e nella produzione di IFN-alfa. Al contrario nessuna significativa variazione longitudinale nella conta dei DC e nella produzione di IFN alfa è stata osservata in 4 pazienti che non avevano avuto risposta al trattamento antitubercolare. In conclusione la TB attiva risulta associata ad un difetto quantitativo di DC ematiche e alla produzione di IFN alfa che ritornano a livelli normali dopo la clearance batterica e di miglioramento clinico come risultato di un effettivo trattamento antitubercolare".

CLINICA

Shihtr D, Vertenshtein T, Shihtr Bar-Gil Shlomi D, Kramer MR. The role of routine culture for tuberculosis during bronchoscopy in a non endemic area: Analysis of 300 cases and review of the literature. *American Journal of Infection Control* 2005; 33(10): 602-605.

Molti centri eseguono di routine la coltura dei Micobatteri da materiali broncoscopici anche quando la TB non è sospettata. Il valore di questa pratica è poco definita nelle aree a scarsa incidenza di TB. Gli AA israeliani del lavoro hanno analizzato 300 casi sottoposti a broncoscopia includenti 175 uomini e 125 donne con un'età media di 62±25 anni. In questa casistica la coltura aveva evidenziato la crescita culturale in 4 casi (1.33%) di Mt e in 4 casi di NTM. Non si sono riscontrati casi di microscopia positiva o coltura positiva in pazienti con atelettasia, masse polmonari o emottisi in casi con normali radiografie. Tutti 4 pazienti con NTM presentavano infiltrati polmonari. L'impiego di una strategia diagnostica costo-efficace se fosse stata condotta al di là dei pazienti senza segni clinici di TB o presenza di masse polmonari avrebbe permesso un risparmio di 5350 dollari. I risultati ottenuti indicano l'importanza di una effettiva strategia in merito alle colture per TB durante la broncoscopia in aree a bassa endemicità tubercolare puntualizzando i casi con masse polmonari.

Tozkoparan E, et al. The diagnostica value of serum, pleural fluid and urine neopterin measurements in tuberculous pleurisy. *Int J Tuberc Lung Dis* 2005; 9(9):

1040-5.

La neopterinina è un marker dell'immunità cellulo-mediata ed è stato rilevato che i livelli di neopterinina nei vari liquidi corporei possono essere elevati nel caso di tubercolosi. I livelli di neopterinina nel liquido pleurico, siero ed urine sono stati indagati. I livelli di neopterinina nel siero, liquido pleurico ed urine sono risultati significativamente più elevati nei pazienti con tubercolosi pleurica in raffronto a quelli con versamento pleurico non tb. La neopterinina del liquido pleurico $> 0 = a 30 \text{ mol/l}$ ha dato il miglior risultato diagnostico con 85% di sensitività, 93% di specificità, 94% di valore predittivo positivo, 84% valore predittivo negativo ed 89,5% di accuratezza diagnostica sebbene non superiore alla determinazione della deaminase adenosinica del liquido pleurico. In conclusione l'elevazione dei livelli di neopterinina riflette l'attivazione dell'immunità cellulo mediata e la misurazione può essere di interesse nel differenziare la diagnosi della pleurite tb.

Falzon D, Le Strat Y, Belghiti F, Infuso A, Euro TB. Correspondents-Exploring the determinants of treatment success for tuberculosis cases in Europe. *Int J Tuberc Lung Dis* 2005; 9(11): 1224-1229.

Valutazione eseguita in 18 paesi europei riguardo ai casi verificatisi nel 2000 e/o 2001. Sono stati considerati i casi che hanno completato il trattamento indipendentemente dai dati batteriologici. Fra i paesi europei hanno partecipato fra gli altri Islanda, Romania e Norvegia. Su 24660 casi con TB successo è stata rilevato nel 69%, 9% sono deceduti, 4% non valutati e 12% sconosciuti. Fra i casi con i risultati della sensibilità ai farmaci il successo era legato con l'età più giovanile, il sesso femminile, l'assenza di poli-resistenza. Fra i paesi l'Olanda e la Slovacchia hanno riscontrato con l'Estonia elevato successo mentre questo era inferiore in Austria. Le variazioni fra i singoli paesi indicano differenze nella valutazione dei dati e nell'efficacia dei programmi nazionali di controllo. L'Italia non è compresa nei paesi partecipanti.

Musellim B, Erturan S, Sonmez Duman E, Ongen G. Comparison of extra-pulmonary and pulmonary tuberculosis cases: factors influencing the site of reactivation. *Int J Tuberc Lung Dis* 2005; 9(11): 1220-3.

Lo studio di AA turchi pone il problema dei fattori influenzanti le sedi di riattivazione. Un totale di 226 casi di tubercolosi polmonare (PTB) e 139 di tubercolosi extrapulmonare (EPTB) sono stati paragonati in termini di età, malattie concomitanti, uso di farmaci immunosoppressivi, storie di contatti con casi di PTB, storie di TB, abitudini al fumo ed alcool. I risultati evidenziano che in ambedue i gruppi l'appartenenza al sesso era diversa: rispettivamente il 74% di casi EPTB ed il 34% di casi di PTB erano femmine; 53,3% di casi PTB e 23% di casi EPTB erano fumatori e la malattia è comparsa entro i primi 5 anni dal contatto nel 23,7% dei casi di EPTB in paragone al 72,6% dei casi di PTB. In un'analisi logistica di regressione il fumo ed il tempo di intervallo tra il contatto e la malattia influenza la sede di riattivazione. Le conclusioni: la probabilità dello sviluppo di PTB è più elevata nei maschi, nei fumatori e nei primi 5 anni di contatto. In contrasto la probabilità dello sviluppo di EPTB è più elevata nelle donne e dopo i 5 anni dal contatto.

De Viedma G, Rodriguez NA, Andrés S, Ruiz Serrano MJ, Bouza E. Characterization of clonal complexity in tuberculosis by Mycobacterial interspersed repetitive

unit-variable-number tandem repeat typing. *J Clin Microbiol* 2005; 43(11): 5660-5664.

Il rilievo e la caratterizzazione delle varianti clonali del Mt con metodi tipici standard di genotipizzazione sono spesso laboriosi e richiedono esperienza. Scopo degli AA di Madrid, Hospital Maranon, è stato quello di valutare il sistema variable-number tandem repeat (MIRU-VNTR) per ottimizzare l'analisi clonale. MIRU-VNTR è in grado di rilevare varianti clonali miste presente anche con cloni di bassa ratio. La tecnica è stata impiegata per ricercare casi infettati da più di un clone. Varianti clonali nello stesso ospite sono state riscontrate in 3 di 115 casi (2,6%) fra cui casi non differenziabili con RFLP o spoligotyping. In un caso vi era diversità di resistenze e la tecnica è risultata utile nel riscontrare coinfezioni e nel riscontrare infezioni di comparti. In conclusione per gli AA MIRU-VNTR è un metodo rapido, sensibile che permette di indagare la complessità clonale.

De Viedma G et al, fra cui Bouza E. Association between the infectivity of Mycobacterium tuberculosis strains and their efficiency for extrapulmonary infection. *J Infect Dis* 2005; 192(12): 2059-2065.

La TB extrapulmonare è causata in prevalenza da un'alterata immunità dell'ospite. Il ruolo addizionale svolto dai fattori batterici nel determinare se un'infezione da Mt si sviluppa in zone extrapulmonari non è stata analizzata completamente. Nello studio eseguito gli AA spagnoli di Madrid hanno selezionato i pazienti che erano stati infettati con due ceppi di Mt ma nei quali solo un ceppo aveva infettato i siti extrapulmonari mentre l'altro era localizzato nel sito respiratorio. Hanno paragonato l'infettività dei ceppi della zona respiratoria ed extra respiratoria in un saggio di coinfezione competitiva osservata nei macrofagi ed in un modello di infezione murina aerosolica. I ceppi extrapulmonari hanno infettato i macrofagi con modalità più efficiente dei ceppi respiratori ed un ceppo significativo extrapulmonare ha dimostrato una più elevata infettività in vitro. I dati ottenuti indicano che in aggiunta allo stato immunitario dell'ospite un fattore batterico-l'infettività del ceppo Mt-deve essere preso in considerazione in merito alla disseminazione extrapulmonare.

Tueller C, et al. Value of smear and PCR in bronchoalveolar lavage fluid in culture positive pulmonary tuberculosis. *Eur Respir J* 2005; 26(5): 767-772.

Lo scopo dello studio condotto da AA di Basilea, Svizzera è stato quello di analizzare il rendimento del liquido di lavaggio broncoalveolare (BALF) microscopico e la PCR in pazienti con TB polmonare accertata. I pazienti con coltura positiva per Mt complex nello sputo o BALF sono stati analizzati per 5 anni.

In totale 90 su 230 (39%) dei pazienti con coltura positiva per TB polmonare avevano un microscopico positivo e a 120 è stata eseguita broncoscopia. Microscopia di BALF è risultata positiva in 56 casi (47%), BALF PCR in 93(78%) emicroscopia BALF e/o PCR positiva in 83%. In totale 71 pazienti che eseguirono la broncoscopia ed ebbero un record completo sono stati ulteriormente analizzati. BALF (microscopia o PCR) hanno permesso una diagnosi rapida in 10 (59%) di 17 casi con microscopia negativa e in 49 di 54 pazienti (91%) che non avevano produzione di espettorato. Di questi 71 pazienti 12 (71%) erano solo positivi alla coltura. La diagnosi rapida di TB polmonare è stata eseguita con microscopia o PCR in 190 di 210 casi

(90%) nello sputo o BALF. In conclusione l'uso combinato di microscopia del liquido di lavaggio broncoalveolare e PCR presenta un rendimento diagnostico ottimale nei pazienti sputo negativi o non produttori di espettorato.

Okur E, et al. Patterns of delays in diagnosis amongst patients with smear-positive pulmonary tuberculosis at a teaching hospital in Turkey. *Clin Microbiol Infect* 2006; 12: 90-92.

Poniamo all'attenzione il lavoro eseguito ad Istanbul per una comparazione conoscitiva della situazione colà esistente ovviamente molto diversa dalla nostra realtà. Gli AA turchi hanno indagato 151 casi positivi ed hanno osservato che tra l'inizio dei sintomi e la visita medica erano trascorsi 46.4 giorni (media 28.), che il ritardo diagnostico era di 2,4 giorni (media 0.8) e che il ritardo nella consultazione di un medico interessava il 49% dei pazienti. La causa di questo ritardo è stata imputata ad un basso sospetto per la patologia tubercolare da parte dei medici e del sistema salute e per i tempi del laboratorio.

Walton C, Hawkey PM, James LA. Examination of specimens for mycobacteria in clinical laboratories in 21 countries: a 10-year review of the UK National Quality Assessment Scheme for Mycobacterial Culture. *Clin Microb Infect* 2005; 11: 1016-1021.

Si pubblicano i dati ottenuti sulla batteriologia dei Micobatteri ottenuti dall'UK National Quality Assessment (EQA) Service of Microbiology (UK NEQAS). Riportiamo alcuni paragrafi dell'abstract: "Culture ottenute fra il 1993 e il 2003 sono state valutate e accertate per determinare l'aspettato aumento derivato dall'uso dei metodi rapidi per i Micobatteri finalizzato per migliorare il tempo di positività impiegato nella valutazione dei risultati. Quattro campioni di sputo contenenti micobatteri in colture miste con organismi commensali normali sono state distribuite tre volte l'anno. I laboratori partecipanti sono stati richiesti di riportare la presenza dei micobatteri ed il tempo necessario per ottenere un risultato positivo. Il livello di performance è risultato notevolmente alto con una percentuale media di risultati validi nel 94% nei dieci anni.

Il tempo di esposizione della positività è diminuito da 24 a 17 giorni nei precedenti 8 anni e questo va ascritto ai metodi di continuous automated mycobacteria liquid culture (CAMLiC) ed ai metodi molecolari. L'aumento dei metodi rapidi di colture ha provveduto ad andare incontro al tempo richiesto del CDC che è di 21 giorni". Ricaviamo dal testo del lavoro alcune notazioni: 355 laboratori di cui 160 in vari paesi del mondo hanno partecipato al test (PS: non viene precisata la presenza dei laboratori a seconda del paese) e nel corso degli anni il numero dei laboratori che hanno valutato genere e specie di alcuni MOTT è aumentato, (praticamente dall'8% nel 1995 al 19% nel 2002), la presenza di false positività dovute a cross contaminazioni, la constatazione che nel 70% dei casi viene usato solo un metodo CAMLiC e che un numero nettamente inferiore pratica la coltura sia con terreno liquido (in CAMLiC) che solido ed un buon numero pratica sempre l'isolamento con metodi convenzionali; che solo 2 laboratori considerano dati di resistenza con l'Etest. Il giudizio finale è positivo sulla validità generale dei dati.

Mufti AH, Toye BW, Mckendry RJ, Angel JB. *Mycobacterium abscessus* infection after use of tumor necrosis factor a inhibitor therapy: case report and review of infectious

complications associated with tumor necrosis factor a inhibitor use—*Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 2005; 53(3): 233-236.

È ben conosciuto che dopo terapia con tumor necrosis factor a (TNF) come ifliximab ed etanercept molto impiegati nel trattamento di malattie infiammatorie come artrite reumatoide e morbo di Crohn e come apparente risultato della attività immunomodulatoria è la comparsa del Mt. Gli AA canadesi del lavoro qui citato segnalano la comparsa di un ceppo a crescita rapida come *M. abscessus* (in una donna di 67 anni).

Ferrara G, Richeldi L, Bugiani M, Cirillo D, Besozzi G, Nutini S, Casali L, Fiorentini F, Codecasa LR, Migliori GB. Management of multidrug resistant tuberculosis in Italy. *Int J Tuberc Lung Dis* 2005; 9(5): 507-513.

Impostazione: SMIRA (Italian study on antituberculosis drug resistance) includeva 46 cliniche maggiori e 22 laboratori distribuiti in Italia.

Obiettivi: determinare il comportamento, l'aderenza alle linee guida del WHO su MDR-TB dal gennaio 1995 al dicembre 1999. I risultati sono stati stratificati a seconda di regimi appropriati e non appropriati (meno di 3 farmaci attivi). L'analisi è stata eseguita in accordo all'adeguamento della terapia e con analisi univariata e multivariata. Risultati: Diagnosticati 127 pazienti MDR e l'entità di successo è stata bassa (39%), 70% dei casi sono stati trattati con almeno tre farmaci attivi. Fattori predicienti il successo erano rappresentati da casi MDR-TB recenti, trattamento > o = 12 mesi. L'immigrazione e la presenza di HIV hanno costituito il rischio maggiore. I casi vanno devoluti a centri specializzati.

Moro ML, Resi D, Lelli R, Nicoli A, Gagliotti G, Falcone F. Barriers to effective tuberculosis control: a qualitative study. *Int J Tuberc Lung Dis* 2005; 9(12): 1355-1360. Lo studio è stato eseguito dagli operatori sanitari della Regione Emilia Romagna nell'intento di creare barriere per un effettivo controllo della tubercolosi indicandone le possibili soluzioni. È stata indicata una serie di 9 gruppi focali (focus group) includenti 49 medici e sono state identificate tre categorie di barriere: 1) valutazione ed incertezza in merito alla appropriata pratica clinica nel trattamento di specifici sottogruppi di pazienti come gli anziani o gli immigrati, 2) fattori di organizzazione come la disponibilità ai servizi diagnostici e di risorse sufficienti, 3) barriere multiple per un valido ed efficace programma di controllo della Tb in un paese a bassa incidenza di TB. Le conclusioni degli AA del lavoro: la mancanza di integrazione e coordinazione dei servizi sanitari come la scarsità di personale infermieristico dedicato alla TB sono state percepite dai partecipanti come barriere cruciali per un effettivo controllo delle TB. Come risultato di questo studio è partito uno studio regionale con gli scopi di quantificare la necessità di infermiere dedicate alla TB e di sviluppare una migliore rete per i richiesti servizi sanitari. Studi qualitativi come quello presentato possono essere utili nel migliorare il controllo della TB in paesi a bassa prevalenza di TB, per identificare i problemi ed aumentare la partecipazione professionale (l'assenza di qualsiasi richiesta di personale e tecnologie moderne proposta sul tema "Barriere per un effettivo controllo della tubercolosi: studio qualitativo di presidi moderni" semplicemente limitata alla presenza di personale di assistenza infermiere lascia perplessi nell'ottica di un reale controllo della malattia).

NOTIZIE DISORDINATE

***Linee guida per prevenire la trasmissione:** MMVR 12/29/05 è citato da vari interventi in Divc@mail.asmus.org per segnalare la nuova pubblicazione di "Guidelines for preventing the transmission of *Mycobacterium tuberculosis* in health care facilities". Trattasi di un aggiornamento delle note pubblicate nel 1994 in funzione della epidemiologia attuale della malattia. Il testo completo, molto dettagliato, magnificamente suddiviso a seconda delle situazioni operative non dovrebbe mancare nei laboratori che operano la micobatteriologia ad un certo livello. È completamente consultabile: http://www.edc.gov/mmvr/preview/mmvrhtml/rr5417a1.htm?s_eid=rr5417a1_e

***Sul sito Stoptb.com si può prendere visione del programma decennale di lotta alla TB 2005-2015**

***Si susseguono i corsi e gli incontri di aggiornamento nazionali sulla tubercolosi.** A Milano il 19 maggio 2006 sotto il titolo Tubercolosi: una patologia

riemergente corso residenziale dell'accademia nazionale di medicina con sessioni dedicate alla epidemiologia, problematiche emergenti (migrante, HIV) diagnosi e terapia.

A Novara l'8 giugno 2006 nella sede dell'Auditorium della Banca Popolare sotto il titolo "La malattia tubercolare oggi: novità diagnostiche e cliniche" incontro sul tema.

L'incontro di Milano è dedicato a laureati in prevalenza medici, l'incontro di Milano si rivolge a laureati, tecnici di laboratorio, infermieri professionali preferibilmente dei reparti di pneumologia. A questi va aggiunto l'incontro che si terrà all'Ospedale San Raffaele di Milano il 23 marzo 2006 in occasione della giornata internazionale della TB. Organizzato da Daniela Cirillo sul tema Tubercolosi un problema globale incontro annuale della Sezione Italiana di STOP TB Italia.

Il programma decennale internazionale di STOPTB verrà ampiamente citato.

RASSEGNA

storico-culturale

LE MALATTIE SESSUALMENTE TRASMISSIBILI: UNA LUNGA E VECCHIA STORIA

ROBERTO POZZOLI

Il parte

Il medioevo

La scuola sanitaria salernitana. La medicina araba: Avicenna

In un delizioso poemetto in versi datato tra l'XI e il XII secolo, il "Flos Medicinae Salerni" meglio noto come "La regola sanitaria salernitana", che rappresenta uno dei primi documenti di igiene alimentare ad uso popolare, i monaci cui era demandata l'arte medica in quella parte della nostra penisola dettavano oltre ai principali precetti pratici cui attenersi per una vita più salubre anche consigli sull'utilizzo di alcune erbe per la cura di varie patologie. Un'antica e utilissima fitoterapia.

In particolare si soffermavano sulle proprietà negative che alcuni alimenti potevano esercitare sulla "forza" dello sperma e del rapporto sessuale, come la birra e l'aceto <<...sperma ninorat>>, il sale <<... urunt persalsae visum spermaque minorant>> e la ruta <<Ruta viris coitum minuit mulieribus auget...>>.

Nel contempo mettevano in risalto le ripercussioni negative che l'eccesso di rapporti carnali potevano avere in generale su altre funzioni vitali del nostro corpo.

Così, per esempio, nuocciono altamente alla vista <<... sol, coitus, ignis...>> il sole, il coito e il fuoco.

La medicina dopo i fasti di Ippocrate, di Celso e di Galeno, conosce nel primo medioevo, fatta eccezione

appunto per la sola Scuola salernitana, un periodo di oscurantismo dominato dall'ignoranza e dalla superstizione che arriva a considerare l'uomo ammalato come il segno della punizione divina.

Furono gli arabi a riportare a nuovi splendori l'arte medica, anche se la loro non può essere considerata completamente originale.

Nonostante abbia avuto l'indiscutibile merito di aver introdotto ardite manovre nel campo della chirurgia generale e specialistica e nonostante per prima abbia descritto in modo dettagliato alcune malattie infettive come rosolia, morbillo e vaiolo essa rappresentò soprattutto il risultato della grecizzazione culturale dell'Oriente.

La tradizione medica greca trovò una sua cassa di risonanza nelle scuole di medicina delle principali città turche, persiane, siriane ed egizie e divenne patrimonio musulmano in seguito alla loro conquista da parte del popolo arabo.

Se la medicina araba viene ritenuta in parte l'applicazione di quella greca è però indubbio che ad essa si deve se questa è sopravvissuta e ci è stata tramandata.

Le mastodontiche opere di Ippocrate e di Galeno vennero tradotte in arabo e in tal modo conosciute, conservate e diffuse insieme a quelle romane in Occidente durante i secoli bui del medioevo.

I sapienti occidentali si fusero in un perfetto connubio culturale con quelli arabi giunti al seguito delle conquiste militari islamiche della Spagna (dall'VIII secolo alla metà del XV) e della Sicilia (dal IX secolo all'inizio dell'XI) e ad essi furono tributari della conoscenza scientifica greco-araba rigorosamente, ma non gelosamente, custodita che rivisse in fedeli traduzioni latine. Molti furono i medici arabi la cui fama ci è pervenuta, come Avenzohar, Abulater, Rhazes, Ibn Rushd (Averroè), ma fra tutti risalta la figura dell'uzbeko Allah Ibn Sina, conosciuto in Occidente come Avicenna (980-1037) che nel suo "Poema della Medicina" offre