

dalle feci dell'uomo. *Listeria monocytogenes* causa infezioni di diversa natura, genericamente dette listeriosi che sono più frequenti nelle donne gravide e nei soggetti immunocompromessi.

Descrizione del caso. Un nato a termine da parto spontaneo presenta indice di Apgar 10 al primo ed al quinto minuto. La madre subito dopo il parto manifesta febbre a 40°C, resistente agli antipiretici, ma sensibile all'antibiototerapia. A 18 ore di vita il piccolo viene trasferito in TIN per ingravescente gemito espiratorio e ipertermia. Per la comparsa di episodi subentranti di apnea viene posto in CPAP con cannula nasofaringea. Gli esami ematochimici mostrano progressivo calo dei globuli bianchi, aumento della PCR, alterazione delle prove di coagulazione. In seconda giornata si evidenziano un esantema puntiforme non confluyente e secrezioni mucopurulente ad entrambi gli occhi. Per il grave distress respiratorio si rendono necessari l'intubazione ed il collegamento al respiratore meccanico. Nell'emocoltura e nei tamponi nasale, congiuntivale e auricolare si apprezza la crescita in piastra di colonie simili a quelle di *S. agalactiae* ma catalasi positive. I vetrini predisposti evidenziano la presenza di cocco-bacilli Gram positivi, identificati successivamente come *Listeria monocytogenes*. L'antibiogramma consente la terapia specifica con amikacina e ampicillina mentre quella empirica era basata sull'uso di amikacina e cefalosporine, non efficaci sulle listerie. In quarta giornata si registra comunque l'exitus.

Conclusioni. Nelle donne gravide, alla 35^a - 37^a settimana di gestazione, deve essere effettuata la ricerca, su tampone vaginale, oltre che dello *Streptococcus agalactiae* (GBS), anche di patogeni meno comuni ma altrettanto temibili come le listerie. È auspicabile che il metodo di rilevamento rapido nel periodo intrapartum (PCR - 75 minuti) della colonizzazione da GBS nelle donne non precedentemente testate sia al più presto esteso alla ricerca di *Listeria monocytogenes*.

034

VALUTAZIONE DEL T-SPOT.TB PER IL FOLLOW-UP DELLA TERAPIA ANTITUBERCOLARE E PREVENTIVA

Piana F.^{1,2}, Codecasa L.R.², Baldan R.¹, Miotto P.¹, Ferrarese M.², Cirillo D.M.¹

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

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

Introduzione. Recentemente sono stati proposti per la diagnosi della malattia tubercolare attiva e dell'infezione tubercolare latente (LTBI) nuovi test, basati sulla determinazione dell'interferon- γ prodotto dai linfociti T stimolati con antigeni specifici della tubercolosi (TB). T-SPOT.TB (Oxford Immunotec, Oxford) ha dimostrato sensibilità e specificità migliori del test Mantoux. I risultati sono forniti in Spot Forming Cells (SFC), pertanto abbiamo valutato la possibilità di utilizzare questa caratteristica come parametro per la determinazione della risposta alla terapia antitubercolare e preventiva (PT).

Metodi. A tale scopo, abbiamo effettuato prelievi ematici da 14 pazienti con TB attiva e da 59 soggetti con elevato sospet-

to di LTBI prima dell'inizio della terapia appropriata (tempo 0) e a fine trattamento (tempo 6 o 12).

Risultati. Tutti i pazienti con TB e LTBI avevano un risultato del T-SPOT.TB positivo al tempo 0. In quattro pazienti con TB attiva è stato eseguito un'ulteriore determinazione dopo 2 mesi di terapia specifica: 1 paziente è risultato negativo, mentre 3 (75%) ebbero un incremento della conta di SFC.

I test eseguiti sui 14 pazienti con TB attiva al termine della terapia sono risultati negativi in 5 casi, mentre in 7 casi è stata osservata una diminuzione del numero degli spot ed in 2 pazienti l'incremento.

Nel gruppo di pazienti con LTBI, i test eseguiti a 6 mesi si sono rilevati negativi in 12 casi (20,3%), si è osservata una diminuzione del numero degli spot in 32 (54,3%), mentre si è assistito all'incremento in 10 (16,9%). In 5 casi (8,5%) la conta di SFC non è variata.

Conclusioni. Complessivamente, il 70% dei pazienti sottoposti a terapia ha avuto un decremento della conta degli spot o una negativizzazione del test, pertanto il T-SPOT.TB potrebbe diventare un mezzo per determinare la risposta alla terapia, soprattutto nei pazienti con LTBI, per i quali non è ancora disponibile un parametro biologico.

035

CONFRONTO DI DUE IFN- γ TEST NELLA RICERCA DELL'INFEZIONE TUBERCOLARE LATENTE NELLA POPOLAZIONE GENERALE E IMMUNOCOMPROMESSA

Piana F.^{1,2}, Codecasa L.R.², Miotto P.¹, Baldan R.¹, Ferrarese M.², Cirillo D.M.¹

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

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

Introduzione. Due test commerciali, basati sulla determinazione dell'Interferon-gamma prodotto da linfociti T stimolati da specifici antigeni di *M.tuberculosis*, hanno ricevuto recentemente la licenza in Europa per la diagnosi della tubercolosi (TB) e dell'infezione tubercolare latente (LTBI): il T-SPOT.TB (Oxford-Immunotec) ed il QuantiFERON-TB GOLD In-Tube (Cellestis) (QFT). Lo scopo di questo lavoro è stato quello di valutare la loro capacità di individuare i pazienti realmente infetti nella ricerca dei contatti di un caso di TB e di confrontare i risultati di entrambe con il test Mantoux (TST).

Metodi. Per tale ragione, abbiamo arruolato 121 contatti, 35 dei quali farmacologicamente immunosoppressi. Per questo ultimo gruppo di pazienti, come suggerito dalle linee guida del QFT, la capacità dei linfociti di rispondere alla stimolazione è stata controllata utilizzando una provetta contenente del mitogeno.

Risultati. Negli 86 contatti immunocompetenti, il TST è risultato positivo in 60 (69,8%), il T-SPOT.TB in 35 (40,7%) ed il QFT in 39 (45,3%). Per la mancanza del controllo positivo del mitogeno in questo gruppo di pazienti, non è possibile determinare il reale numero di risultati indeterminati del QFT. Il T-SPOT.TB è stato indeterminato in 3 casi (3,4%).

Nei 35 pazienti severamente immunocompromessi, il TST è risultato positivo in 5 pazienti (14,3%), il T-SPOT.TB in 9

(25,7%), mentre il QFT in 1 caso (2,8%). In questo gruppo la percentuale di indeterminati è stata del 14,3% circa per entrambe i test commerciali.

Conclusioni. Questi dati preliminari suggeriscono che l'utilizzo di un controllo positivo è cruciale nei pazienti gravemente immunodepressi e, nella nostra esperienza, il T-SPOT.TB sembra essere più sensibile in questo gruppo rispetto al QFT.

036

DATI PRELIMINARI SULL'ANTIGENICITÀ DELLA PROTEINA PGP3 DI *C. PSITTACI*

Pignanelli S.¹, Donati M.¹, Storni E.¹, Mazzeo C.¹, Magnino S.², Renzi M.³, Cevenini R.¹

¹DMCSS - Sez. Microbiologia, via Massarenti 9, 40138 Bologna

²IZSLER - Sez. Diagnostica di Pavia, strada Campoggi 61, 27100 Pavia

³IZSLER - Sez. Diagnostica di Bologna, via Fiorini 5, 40100 Bologna

Introduzione. *C. psittaci* è un batterio responsabile di un'ampia gamma di infezioni negli animali e di infezioni occasionalmente trasmissibili all'uomo (zoonosi). In questo studio è stata indagata l'antigenicità della proteina pgp3, proteina a codificazione plasmidica, mediante la dimostrazione di anticorpi specifici in corso di infezione.

Metodi. La risposta sierologica, nei confronti della proteina ricombinante pgp3 di *C. psittaci*, è stata studiata mediante la tecnica del Western Blot (WB). I sieri saggiati provenivano da 3 piccioni positivi all'isolamento di *C. psittaci* e da 220 piccioni indagati a caso. Inoltre è stato studiato 1 siero umano da paziente con polmonite atipica positiva all'isolamento di *C. psittaci*.

Risultati. Sono stati individuati anticorpi specifici anti-pgp3 sia nei sieri di piccione positivi all'isolamento di *C. psittaci*, sia nel 40% dei sieri di piccione prelevati a caso (88 su 220 sieri testati). Inoltre, il siero del paziente con polmonite atipica, reagiva con pgp3 di *C. psittaci*.

Conclusione. Dai dati preliminari ottenuti in questo studio, la proteina pgp3 si è dimostrata un antigene riconosciuto in corso di infezione attiva e comunque un marcatore di infezione (piccioni).

037

IDENTIFICAZIONE DI CEPPI DIVERSI DI *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* IN PAZIENTI AFFETTI DA FIBROSI CISTICA

Pulcrano G.¹, Lambiase A.¹, Del Pezzo M.¹, Raia V.², Rossano F.¹

¹Dipartimento di Biologia e Patologia Cellulare e Molecolare "Luigi Califano", Università degli Studi di Napoli "Federico II", via Pansini, 80100 Napoli

²Dipartimento di Pediatria, Università degli Studi di Napoli "Federico II", via Pansini, 80100 Napoli

Introduzione. *Pseudomonas aeruginosa* (PA) è il patogeno che causa più dell'80% delle affezioni polmonari in soggetti affetti da Fibrosi Cistica. Tra i fattori di virulenza di PA ci sono i pili, fondamentali nell'interazione con le cellule dell'epitelio polmonare e composti da piline, subunità monomeri-

che di circa 15 kDa, codificate dal gene pilA. Il confronto delle sequenze amminoacidiche di piline estratte da ceppi diversi di PA ha evidenziato che la regione all'estremità N-terminale, coinvolta nell'assemblaggio del pilo, è fortemente conservata, mentre la regione C-terminale, coinvolta nell'interazione con i recettori eucariotici, è molto variabile. Anche l'operone della pilina presenta un'enorme variabilità genica: infatti in alcuni ceppi il gene pilA si trova strettamente a monte del gene tRNA-Thr, mentre in altri sono fraposte sequenze codificanti per proteine coinvolte nella biosintesi del pilo.

Lo scopo del lavoro è caratterizzare ceppi di PA isolati dagli espettorati di pazienti affetti da Fibrosi Cistica, colonizzati in modo cronico, sequenziando il gene pilA.

Metodi. Dai ceppi isolati è stato estratto il DNA genomico e il gene per la pilina è stato amplificato per PCR mediante l'impiego di due oligonucleotidi che cadono rispettivamente nella regione conservata al 5' del gene e a valle dello stesso gene nella regione del tRNA-Thr. I prodotti di PCR sono stati sequenziati.

Risultati. Nei ceppi analizzati sono stati evidenziati due prodotti di PCR di lunghezza differente, uno corrispondente alla lunghezza attesa per il gene della pilina (circa 500 bp) e l'altro di circa 1500 bp corrispondente alla lunghezza del gene pilA e un gene aggiuntivo. Gli amplificati di 500 bp sono stati sequenziati e in alcuni casi sono risultati identici al gene pilA del ceppo PAK, in altri casi simili al 90% al gene del ceppo PA103.

Conclusioni. Dai risultati preliminari si evince che i ceppi analizzati appartengono a gruppi filogenetici differenti.

038

CORRELAZIONE TRA STADIO DELL' INFEZIONE RESPIRATORIA CAUSATA DA *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* E LIVELLO SIERICO DI ANTICORPI SPECIFICI IN PAZIENTI CON FIBROSI CISTICA

Roschetto E., Lambiase A., Del Pezzo M., Raia V., Ferri L., Gallè F., Rossano F.

Dip. Biologia e Patologia cellulare e Molecolare "Luigi Califano" e Centro di Riferimento Campano per la Fibrosi Cistica - Dip. di Pediatria, Facoltà di Medicina e Chirurgia, Università di Napoli "Federico II".

L'infezione polmonare da *Pseudomonas aeruginosa* (PA) in pazienti con Fibrosi Cistica (FC) è un evento quasi inevitabile. La progressione del danno polmonare è imputabile non solo all'azione patogena del microrganismo, ma anche all'attività difensiva dell'ospite che, incapace di eliminarlo, automantiene un processo di flogosi cronica. Nell'infezione da PA la produzione di anticorpi correla con la comparsa del morfotipo mucoide, la cronicizzazione dell'infezione e la severità della prognosi.

Obiettivi. Valutare in 100 pazienti afferenti al Centro FC Campano, la relazione tra stadio dell'infezione respiratoria causata da PA e livello della risposta anticorpale specifica.

Materiali e Metodi. La ricerca degli anticorpi anti-PA è eseguita mediante test ELISA che rivela anticorpi sierici contro elastasi, proteasi alcalina ed esotossina A.

Risultati. Tra pazienti con colture costantemente negative, il 69.8% è negativo all'esame sierologico, il 22.7% è risultato positivo (diluizione sierica 1:1000) e il 7.5% ha dato risultati border-line. Tra pazienti con colonizzazione sporadica, il 57.2% ha mostrato siero-negatività ed il 42.8% ha dato valo-