

175

CONFRONTO TRA SDA E REAL-TIME PCR NELLA DIAGNOSTICA DELLA INFEZIONE DA *CHLAMYDIA TRACHOMATIS*: STUDIO PRELIMINARE

¹Di Taranto A., ²Del Prete R., ¹De Nittis R., ¹Antonetti R.,
²Miragliotta G.

¹Laboratorio di Microbiologia,
Azienda Ospedaliera-Universitaria OORR, Viale Pinto, 71100-Foggia
²Sezione di Microbiologia, Dip. MIDIM, Università degli Studi,
Policlinico, P.zza G. Cesare, 4, 70124-Bari.

Introduzione. *Chlamydia trachomatis* è attualmente responsabile di una delle infezioni a trasmissione sessuale (STD) più diffuse. Nel sesso femminile la sua prevalenza cade nell'età compresa tra 18 e 24 anni e nel 70-80% dei casi decorre in maniera paucisintomatica. Ciò implica sottostima della diffusione reale della infezione e possibile evoluzione in Malattia Infiammatoria Pelvica (PID) con conseguenti sterilità e gravidanze ectopiche. L'introduzione in diagnostica dei NAATs (Nucleic Acid Amplification Tests) hanno permesso di controllare la diffusione della infezione. Scopo del nostro lavoro è quello di confrontare due metodiche di amplificazione genica, Strand Displacement Amplification (SDA) e Real-Time PCR, su campioni provenienti da popolazione di sesso femminile e maschile.

Materiali e Metodi. Dal 1° Settembre al 30 Novembre 2005 sono stati esaminati 67 campioni clinici di cui 59 tamponi endocervicali (8 da gravide) e 8 urine (da sesso maschile) provenienti da pazienti ambulatoriali (1 tampone endocervicale da pz. ricoverata) di età compresa tra 22 e 58 anni afferenti all'ambulatorio di Microbiologia degli OO.RR. Foggia per sintomatologia riferibile a infezione delle vie uro-genitali. I campioni clinici sono stati saggiati contemporaneamente con metodiche molecolari, SDA (Becton & Dickinson, BD, USA) e Real-Time PCR (RealArt™ *C. trachomatis* Plus, Artus-Biotech, Germany) dopo estrazione del DNA mediante sistema automatizzato (Qiagen, Germany).

Risultati. 3/59 tamponi endocervicali sono risultati positivi sia a SDA sia a Real-Time PCR. 1/8 campioni urinari provenienti dal sesso maschile, è risultato positivo sia a SDA sia a Real-Time PCR. 7/8 campioni urinari sono risultati indeterminati a SDA e negativi a Real-Time PCR.

Conclusioni. I dati preliminari ci permettono di affermare che la Real-Time PCR dimostra avere una notevole precisione diagnostica sia come tecnica di screening sia nella conferma della infezione da *Chlamydia trachomatis*. Inoltre, i risultati indeterminati ottenuti dalla tecnica SDA potrebbero essere dovuti all'utilizzazione delle urine che, per la presenza di inibitori, sono considerati campioni "difficili".

176

TIPIZZAZIONE MOLECOLARE DI CEPPI DI *YERSINIA ENTEROCOLITICA* ISOLATI IN ITALIA

Filetici E., Owczarek S., Luzzi I., Dionisi A.M.

Istituto Superiore di Sanità, Viale Regina Elena 299, 00161 Roma.

Introduzione. *Yersinia enterocolitica* è l'unica specie del

genere *Yersinia* responsabile di gastroenteriti nell'uomo; è ampiamente diffusa in natura e il principale serbatoio è rappresentato dai suini; l'infezione viene prevalentemente contratta attraverso il consumo di carni suine contaminate ed è di tipo sporadico, anche se non mancano descrizioni di episodi epidemici. La maggior parte dei ceppi isolati da fonte non umana risultano non tipizzabili ed è necessario utilizzare tecniche di tipizzazione molecolare che consentano lo studio del DNA.

La frequenza di isolamento di *Y. enterocolitica* in casi umani di gastroenterite in Italia è piuttosto bassa, tuttavia il microrganismo viene ricercato e ritrovato frequentemente negli alimenti di origine animale e nei vegetali. Scopo della nostra ricerca è stato quello di analizzare ceppi di *Y. enterocolitica* isolati da diverse fonti mediante elettroforesi in campo pulsato (PFGE), al fine di verificare la capacità discriminante di questa tecnica e di creare una collezione di profili elettroforetici di ceppi attualmente circolanti nel nostro Paese.

Metodi. Sono stati analizzati 70 ceppi di *Y. enterocolitica* isolati da alimento, da animale, da uomo negli anni 2004-2005. Su tutti i ceppi è stata eseguita sierotipizzazione, determinazione della sensibilità agli antibiotici e PFGE.

Risultati. L'analisi mediante PFGE ha prodotto 66 profili elettroforetici diversi per 69 ceppi non correlati epidemiologicamente (potere discriminante > 98%) rilevando profili diversi anche all'interno dello stesso sierotipo. Solo per 2 ceppi isolati da infezione umana correlati temporalmente e geograficamente sono stati ottenuti profili elettroforetici identici.

Conclusioni. La PFGE si dimostra una tecnica di tipizzazione valida anche per *Y. enterocolitica* utilizzabile a supporto degli studi epidemiologici; è inoltre uno strumento di tipizzazione indispensabile per i ceppi non sierotipizzabili isolati da varie fonti alimentari di cui ancora è sconosciuto il ruolo nelle infezioni umane.

177

METODI MOLECOLARI A CONFRONTO PER LA TIPIZZAZIONE DI HCV-RNA

Gabella S., Alice T.; Varetto S., Pittaluga F., Ghisetti V.,
Marchiaro G.

S.C. Microbiologia, Azienda Ospedaliera S. Giovanni Battista di
Torino, c.so Bramante 88/90 - 10126 Torino

Introduzione. La tipizzazione di HCV ha valore prognostico in quanto predice la risposta alla terapia ma anche epidemiologico perché consente di valutare la diffusione del virus fornendo uno strumento importante per il controllo di cluster epidemici a livello nosocomiale. Scopo di questo lavoro è valutare il ruolo del sequenziamento diretto di regioni genomiche diversamente variabili di HCV per la tipizzazione di HCV a livello di genotipo e in particolare di sottotipo. Il sequenziamento viene confrontato con il test di ibridazione inversa line-probe-assay (LiPA).

Metodi. 70 campioni di siero da pazienti HCV-positivi e appartenenti ai genotipi 1÷5 secondo LiPA sono stati sottoposti al sequenziamento diretto della regione genomica 5'UTR (5'UTR-Seq). Su 21 campioni (12 5'UTR-Seq-negativi) si è proceduto al sequenziamento diretto della regione NS5b (NS5b-Seq). Per l'analisi filogenetica sono state selezionate sequenze di riferimento rispettivamente per le regio-