

066

**TEST DIAGNOSTICO MOLECOLARE
PER LA DETERMINAZIONE DEL GENOTIPO
ASSOCIATO A VIRULENZA IN
HELICOBACTER PYLORI**Fontana C.^{1,2}, Mauti A.², Favaro M.¹, Pistoia E.S.¹, Favalli C.^{1,2}.¹Dipart. Medicina Sper e Sc. Bioch - Università Tor Vergata
Via Montpellier 1 - 00133 Roma²Lab Microbiologia - Policlinico Tor Vergata
V.le Oxford 81 - 00133 Roma.

La diagnosi di *H.pylori*(Hp), date l'implicazioni di questo patogeno nella patologia umana, necessita di tecniche sensibili, specifiche e poco invasive.

Il saggio EIA per la ricerca degli antigeni fecali aveva aperto una nuova frontiera diagnostica, soprattutto per i pazienti pediatrici, che si preferisce non sottoporre a tecniche invasive (come la gastroduodenoscopia) o per il follow up dei pazienti già Hp positivi, di cui si voleva seguire e monitorare solo il successo terapeutico.

Tuttavia, questo saggio presenta problemi sia di specificità (sono note cross-reattività con *Campylobacter*) che di sensibilità (gli antigeni di Hp nella materia fecale ricca di proteasi si lisano molto rapidamente causando campioni falsamente negativi).

Nuove prospettive si sono aperte con l'introduzione della PCR, soprattutto nell'applicazione della genotipizzazione di Hp. Tale procedura oltre a consentire la diagnosi d'infezione, fornisce anche informazioni prognostiche del decorso dell'infezione stessa, è noto, infatti, che alcuni genotipi di Hp sono più frequentemente associati con evoluzione della malattia gastrica verso il cancro.

Scopo del nostro lavoro è stata la valutazione di una nuova metodica in PCR per lo studio di polimorfismi di *vac A* e per la determinazione della presenza di *cag A*, applicata direttamente sui campioni fecali destinata a sostituire alla approssimativa rivelazione degli ampliconi su gel quella più sofisticata della elettroforesi capillare.

Partendo direttamente dal campione fecale ed utilizzando un sistema d'amplificazione con primer fluorescenti e successiva rilevazione mediante analizzatore genetico a capillare ci siamo proposti di validare una tecnica che avesse connotazioni di elevata sensibilità, specificità e rapidità.

La nostra procedura unisce ai vantaggi di una PCR multiplex (con una sola reazione si ottengono informazioni sia sui polimorfismi di *Vac A* sia sulla presenza di *Cag A*) la straordinaria sensibilità di un sistema di rivelazione di prodotti fluorescenti, con l'elevato potere discriminatorio dell'elettroforesi capillare.

Tale procedura, inoltre, consente di evidenziare varianti di *vac A* di diverso PM, permettendo, così, anche lo studio approfondito delle varianti genetiche di *H.pylori*.

Se a questi vantaggi si unisce la notevole rapidità nell'ottenimento del risultato (3 ore contro le 6 ore della PCR tradizionale) si conclude come la sua applicazione sia vincente nella pratica diagnostica.