

**G057****PREVALENZA DEGLI ANTICORPI ANTI-HAV IN DONNE GRAVIDE E INCIDENZA NEI LORO FIGLI NEL CORSO DEL PRIMO ANNO DI VITA.**

Terulla V.<sup>1</sup>; Zara F.<sup>2</sup>; Berra R.<sup>2</sup>; Terulla C.<sup>2</sup>; De Silvestri A.<sup>3</sup>; Zucca S.<sup>1</sup>; Dotta M.<sup>1</sup>; Pizzini D.<sup>1</sup>; Casali E.<sup>1</sup>; Polatti F.<sup>4</sup>; Belloni C.<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Servizio analisi microbiologiche IRCCS Policlinico San Matteo

<sup>2</sup>Dip S.M.E.C. Sezione di Microbiologia Università di Pavia

<sup>3</sup>Divisione di Neonatologia-Patologia Neonatale IRCCS Policlinico San Matteo <sup>4</sup>Clinica Ostetrica Ginecologica Dip SMEC Università di Pavia

In un'area a bassa/intermedia endemia (10-20/100000ab/anno), una elevata percentuale di donne al parto risulta HAV-sieronegativa. La presente ricerca si propone di valutare, su una popolazione di donne residenti a Pavia e rispettivi neonati lo stato di eventuale HAV-sieropositività e la presenza di HAV-RNA in campioni seriali di plasma e feci.

Le donne gravide sono state valutate per la presenza di IgM-IgG anti-HAV. A tutti i neonati arruolati è stata valutata la reattività HAV-IgG eIgM alla nascita e sono stati prelevati campioni di feci al 1°, 2° e 3° mese di vita al fine di accertare l'eventuale escrezione di HAV-RNA in caso di infezione. La ricerca degli anticorpi anti-HAV IgG è stata eseguita mediante metodica MEIA (AxSYM HAVAB 2.0, Abbott Italia) dosaggio quantitativo utilizzando una curva di calibrazione a 5 calibratori: 0, 5, 10, 20, 50, 100 mIU/ml, la ricerca degli anticorpi HAV IgM è stata eseguita sempre con la stessa metodica MEIA (AxSYM HAVAB-M 2.0 Abbott Italia). Nei campioni di feci è stata effettuata la ricerca dell'RNA virale mediante RT-PCR seguita da una nested-PCR al fine di elevare la sensibilità della metodica.

Delle 269 coppie madre-bambino arruolate le IgM sono risultate negative in tutti i campioni, mentre le IgG sono risultate positive (>10 mIU/ml) in 69 coppie (25,6%; IC 95%: 20,5-31,3%). Ai bambini negativi sono stati raccolti 3 campioni di feci (al 1°, 2° e 3° mese di vita) per la determinazione dell'HAV-RNA. Disponiamo di 177 campioni di feci al 1° mese, di 139 al 2° e di 110 al 3° mese. Una bambina è risultata HAV-RNA positiva al 2° campione, mentre era negativa al 1° ed al 3°.

Ci si propone di arruolare tutti i figli di madre HAV negativa e mantenuti negativi ai 3 controlli dell'HAV-RNA fecale per la vaccinazione anti-HAV già nel 1° anno di vita.

**G058****APPROPRIATEZZA DI METODI MOLECOLARI AVANZATI PER LA DIAGNOSI DI LABORATORIO DI MALARIA: 2 ANNI DI ESPERIENZA**

Calderaro A., Perandin F.<sup>1</sup>, Piccolo G., Zuelli C., Bommezzadri S., Incaprera M., Dell'Anna L.<sup>1</sup>, Arcangeletti M.C., Medici M.C., Ricci L.<sup>2</sup>, Manca N.<sup>1</sup>, Chezzi C., Dettori G.,

Dipartimento di Patologia e Medicina di Laboratorio, Sezione di Microbiologia, Università degli Studi di Parma, Viale Gramsci 14, 43100 Parma, <sup>1</sup>Istituto di Microbiologia, Facoltà di Medicina e Chirurgia, Università di Brescia; <sup>2</sup>Arcispedale di Reggio Emilia.

**Introduzione.** La diagnosi di laboratorio di infezione da

*Plasmodium falciparum* (P.f.), *P. vivax* (P.v.), *P. ovale* (P.o.), *P. malariae* (P.m.), si basa sull'esame microscopico, tutt'ora indagine di riferimento, rapida e poco costosa, ma poco sensibile nel rivelare infezioni a bassa parassitemia e infezioni miste. Di recente, indagini molecolari avanzate, altamente sensibili e specifiche, si stanno opportunamente affiancando ai metodi tradizionali al fine di superarne i limiti. Tale opportunità è stata proposta a partire dal Febbraio 2002 presso il nostro laboratorio e qui verranno descritti i risultati fino ad oggi osservati (Febbraio 2002-Maggio 2003).

**Materiali e Metodi.** Sono stati esaminati 178 campioni di sangue provenienti da 109 pazienti di cui erano noti i dati clinici. Tutti i primi campioni di ciascun paziente con sospetta malaria sono stati sottoposti a microscopia, saggio immunocromatografico (ICT Pf/Pv), e nested-PCR specie-specifica (18S DNA). La sola microscopia è stata utilizzata in tutti i pazienti nei campioni successivi al primo, per valutare l'efficacia della terapia.

**Risultati e Conclusioni.** I risultati ottenuti dimostrano che la nested-PCR è complessivamente più sensibile e specifica delle indagini tradizionali. Infatti, è stato confermato mediante nested-PCR un caso di infezione da *P. falciparum*, sospettato in base a dati clinici ed epidemiologici, ma con risultato negativo alla microscopia. Inoltre, sono stati identificati, solo mediante nested-PCR, i plasmodi di 3 pazienti (2 con infezioni miste: 1 P.f. + P.m. e 1 P.f. + P.o. + P.m. e 1 con infezione da P.m.), identificabili solo genericamente (3 *Plasmodium* spp.) mediante microscopia. Infine, sono stati correttamente identificati, mediante nested-PCR, 2 casi di infezione da *P. ovale*, erroneamente identificati *P. vivax* mediante microscopia. D'altra parte, due casi di infezione da *P. ovale*, correttamente identificati mediante microscopia, non sono stati rivelati mediante nested-PCR, verosimilmente perché in presenza di 2 ceppi di plasmodio mutati nella sequenza bersaglio. Sono in corso studi per verificare tale ipotesi.

**G059****IDENTIFICAZIONE E ANTIBIOGRAMMA DI BACILLI GRAM NEG NON FERM. BD PHOENIX VS SISTEMI MANUALI DI RIFERIMENTO**

Ferrari L.

Laboratorio di Microbiologia

Azienda Istituti Ospitalieri, Cremona

**Introduzione**

Lo scopo dello studio è stato quello di verificare le performance del sistema automatico BD Phoenix nei confronti di bacilli Gram negativi non fermentanti. Sono stati indagati: accuratezza dell'identificazione (ID), dell'antibiogramma (AST) e loro tempi di definizione. Le condizioni operative hanno tenuto conto delle realtà e delle esigenze di un laboratorio di routine ospedaliera.

Il confronto è stato condotto Vs dati ottenuti con sistemi manuali di riferimento

**Materiali e metodi**

Sono stati processati (72) ceppi di *Pseudomonas aeruginosa*, (26) *Stenotrophomonas maltophilia*, (14) *Acinetobacter lwoffii* e (9) *Acinetobacter baumannii*. I ceppi di recente isolamento clinico sono stati processati in doppio mediante pannelli PHOENIX NMIC/ID4. Le sospensioni batteriche e l'inoculo dei pannelli sono state effettuate come indicato da specifiche metodiche, partendo da colonie sviluppatesi su agar Mac-Conkey. Contemporaneamente i ceppi sono stati identificati mediante gallerie API NE (Bio-Merieux) e l'anti-

biogramma è stato determinato in terreno solido secondo Kirby-Bauer. Sono stati impiegati dischetti di: Amikacina, Gentamicina, Aztreonam, Cefotaxime, Cefotaxidime, Cefepime, Imipenem, Meropenem, Piperacillina, Piperacillina-Tazobactam, Ciprofloxacina, Levofloxacina oltre a Cloramfenicolo e Trimetoprim-sulfà per *Stenotrophomonas maltophilia*. Gli aloni d'inibizione sono stati interpretati secondo le regole NCCLS.

#### Risultati e conclusioni

Per quanto riguarda *Ps.aeruginosa* 72×2 pannelli hanno fornito 141 ID corrette con un'accuratezza a livello di specie del 97.9% e una riproducibilità delle repliche pari al 95.7%. *St. maltophilia* 26×2 pannelli hanno fornito 50 ID corrette con un'accuratezza a livello di specie del 96.2% e una riproducibilità delle repliche pari al 92.3%.

Per *A. lwoffii* e *baumanii* 14×2 e 9×2 pannelli hanno fornito rispettivamente 24 e 17 corrette ID con la presenza di alcuni errori di ID a livello di specie, ma non di genere e riproducibilità delle repliche pari al 71.5 e 88.8%. Da considerare che gli errori più frequentemente riscontrati sono stati errori dovuti alla mancata identificazione del ceppo (7 su 242 pannelli)

Anche per i risultati relativi all'esecuzione dell'antibiogramma Phoenix ha dimostrato estrema accuratezza. Le repliche hanno evidenziato grande riproducibilità dei dati. Le rare discrepanze riscontrate rispetto Kirby-Bauer hanno interessato soltanto intervalli Sensibile-Intermedio o Intermedio-Resistente. Eccezionali sono le discrepanze Sensibile-Resistente.

## G060

### RIVALUTAZIONE DELLA PREVALENZA DI GARDNERELLA, TRICHOMONAS VAGINALIS E CANDIDA NELL'ESSUDATO VAGINALE CON SONDE MOLECOLARI

Casari E., Ferrario A., Cristiano A., Grazioli V.

Sezione di Microbiologia, "Istituto Clinico Humanitas",  
Via Manzoni 56, 20090 Rozzano, Milano

**Introduzione:** nell'etiologia delle vaginiti/vaginosi *Gardnerella vaginalis* (GV), *Candida* spp. (CS) e *Trichomonas vaginalis* (TV) sono i microrganismi chiamati più frequentemente in causa; le metodiche di laboratorio classicamente deputate alla loro ricerca (lettura del vetrino dell'essudato vaginale a fresco o dopo colorazione di Gram, coltura in terreni selettivi), oltre a dipendere dalla correttezza di esecuzione del prelievo, presentano, a fronte di un costo contenuto, lo svantaggio di produrre risultati troppo soggetti ad una valutazione soggettiva con tempi che possono arrivare alle 48 ore.

Da pochi anni è disponibile un kit (Affirm VPIII, Becton Dickinson and Company, Sparks, Md.) per la ricerca, mediante ibridazione diretta con sonde DNA specifiche, dei genomi di GV, CS e TV nell'essudato vaginale; la metodica, dotata di adeguata sensibilità analitica, è completata in 40 minuti.

**Obiettivo:** abbiamo deciso di rivalutare, utilizzando il kit Affirm VPIII, la prevalenza di GV, CS e TV nell'essudato vaginale delle donne che sono giunte alla nostra osservazione sia per sospetta vaginite che per screening routinario prefecondazione assistita.

**Materiali e metodi** Da gennaio 2002 ad aprile 2003 sono state studiate 2300 donne con età compresa fra i 14 e i 65 anni (650 candidate alla fecondazione assistita e 1655 con disturbi riferibili a vaginite/vaginosi).

#### Risultati

ETA'	Gardnerella	Trichomonas	Candida spp
>55 (n=110)	19,1%	0,0%	7,3%
55-45 (n=130)	33,8%	3,8%	16,1%
35-45 (n=530)	19,6%	0,4%	9,8%
25-35 (n=750)	20,4%	0,5%	12,1%
<25 (135)	25,9%	0,7%	18,5%

  

ETA'	Gardnerella	Trichomonas	Candida spp
35-45 (n=400)	19,3%	0,5%	9,0%
25-35 (n=250)	17,7%	1,1%	9,3%

#### Conclusioni

1) Per quanto riguarda i soggetti sintomatici, pur con i dovuti distinguo relativi all'area geografica di origine, i risultati, almeno per quanto riguarda GV e CA, sono in linea con quanto riportato dalla letteratura internazionale

Autore	Gardnerella	Trichomonas	Candida spp
Di Bartolomeo S	23,8%	2,4%	17,8%
Hong S	26%	4%	11%
Acikgoz ZC	13,8%	2,2%	26,8%

2) Viene confermato che GV è il più frequente, soprattutto nelle pazienti fra i 45 e i 55 anni  
 3) Non si evidenziano differenze fra la popolazione sintomatica e quella apparentemente asintomatica  
 4) Questi primi dati suggeriscono una rivalutazione del ruolo di questi agenti nella genesi delle vaginiti.

## G061

### TIPIZZAZIONE AUTOMATICA IS6110 DI M. TUBERCULOSIS MEDIANTE IL SISTEMA ROBOTIZZATO RIBOPRINTER®

Barreca P.M., Pittaluga F., Marchiaro G., Cirillo D.

Laboratorio di Microbiologia Clinica AO San Giovanni Battista, c.so Bramante 88, Torino

L'aumento dei casi di tubercolosi, l'insorgenza e la diffusione di ceppi di *M. tuberculosis* multiresistenti (MDR), hanno stimolato lo sviluppo di nuove tecniche di tipizzazione molecolare considerate importanti strumenti per la sorveglianza della malattia. L'analisi RFLP delle sequenze di inserzione IS6110 è considerata la tecnica "gold standard" per lo studio epidemiologico della tubercolosi. Nonostante l'elevato potere discriminante, questo metodo presenta lo svantaggio di possedere lunghi tempi di esecuzione e richiede esperienza nell'interpretazione dei patterns. Il RiboPrinter® è un sistema automatico sviluppato per la ribotipizzazione batterica in grado di effettuare anche analisi automatiche in Southern blot. Questo sistema è stato da noi utilizzato per la tipizzazione automatica IS6110 di *M. tuberculosis*. Lo scopo di questo lavoro è stato quello di valutare la riproducibilità del sistema RiboPrinter® per la tipizzazione IS6110 automatizzata di *M. tuberculosis* paragonandolo ai sistemi di tipizzazione manuali.

Sono stati isolati e tipizzati 44 ceppi di *M. tuberculosis* mediante RFLP-IS6110 convenzionale e PFGE (seguendo i protocolli standard) e mediante RiboPrinter® RFLP-IS6110. Per l'analisi RFLP-IS6110 con RiboPrinter® le cellule sono state trattate con acetone e cloroformio/metanolo (2:1, vol/vol) e risospese meccanicamente in RiboPrinter buffer. L'analisi dei patterns è stata effettuata mediante il software Bionumerics 2.5 per la rivelazione dei clusters.

I risultati ottenuti, analizzati mediante il Software