

# Notiziario

## dell'Istituto Superiore di Sanità

Direttore dell'Istituto Superiore di Sanità e Responsabile scientifico: Giuseppe Vicari

Direttore responsabile: Vilma Alberani; Redazione: Gabriella Bucossi, Paola De Castro Pietrangeli, Franco Timitilli  
Composizione, Stampa e Distribuzione: Patrizia Mochi, Massimo Corbo

Redazione, Amministrazione e Stampa: Istituto Superiore di Sanità, Servizio per le attività editoriali, Viale Regina Elena, 299 - 00161 Roma  
Tel. (06) 49901 - Telex 610071 ISTSAN I - Telegr. ISTISAN - 00161 Roma - Telefax (06) 4469938

Iscritto al n. 475/88 del 16 settembre 1988. Registro Stampa Tribunale di Roma  
© Istituto Superiore di Sanità 1996

### Pneumocystis e Pneumocistosi European Concerted Action - Biomed 1

Elena Ortona e Alessandra Siracusano

**D**al 1994 è in corso di svolgimento il Progetto europeo "Pneumocystis and Pneumocystosis. Impact of the biodiversity of *Pneumocystis carinii* on epidemiology, pathology, diagnosis, monitoring and prevention of pneumocystosis - New therapeutic approaches". (Contratto n. BMH CT94 PL-1118). L'obiettivo principale di questo progetto è la prevenzione e il controllo della polmonite da *P. carinii* (PCP), definendo l'origine, i meccanismi dell'infezione umana e mettendo a punto nuovi metodi di diagnosi.

Il Coordinatore di questo progetto, Eduardo Dei Cas (INSERM-Lille, France), ha coinvolto 19 gruppi di ricerca di 7 paesi europei con competenze specifiche nel campo della parassitologia, biologia cellulare, immunologia, biologia molecolare, genetica delle popolazioni, patologia sperimentale e farmacologia. Il Laboratorio di immunologia dell'Istituto Superiore di Sanità (ISS) e l'Istituto di clinica

delle malattie infettive dell'Università Cattolica del Sacro Cuore sono stati invitati a partecipare al progetto in base alle ricerche effettuate sulla pneumocistosi nell'ambito dei Progetti AIDS dell'ISS.

I partecipanti si riuniscono in "general meetings", in cui vengono riportati i risultati ottenuti, e in "specialized meetings", dove vengono approfondite problematiche tecniche più specifiche. Durante il 1<sup>st</sup> *general meeting*, che ha avuto luogo a Lille nel settembre del 1994, si è creata una fitta rete di collaborazioni su argomenti diversi che variano dallo sviluppo di modelli animali allo studio della variabilità genetica, da studi immunologici a studi di diagnosi molecolare. Caratteristica peculiare di questo tipo di progetti è lo spirito di collaborazione che anima i partecipanti, i quali, liberi da ogni competizione, lavorano insieme esclusivamente per raggiungere risultati comuni.

*P. carinii* causa una polmonite particolarmente severa, letale in assenza di trattamenti

## Sommario

### Pneumocystis e Pneumocistosi European Concerted Action - Biomed 1

Elena Ortona e Alessandra Siracusano

1

### Rapporti ISTISAN

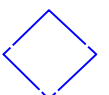
3

to farmacologico, in soggetti con deficit immunitario e, in particolare, in pazienti con infezione da HIV. Nonostante i numerosi studi effettuati negli ultimi anni resta ancora molto da chiarire sulla trasmissione, sul ciclo di vita, sulle caratteristiche biochimiche e immunologiche di *P. carinii*. Questo microrganismo, appartenente al regno dei funghi, è specie-specifico e, inoltre, è stato dimostrato che lo stesso ospite può essere infettato da ceppi diversi.

Pertanto il primo obiettivo, che il Progetto Biomed 1 si

pone, è di definire i "markers" parassitari che permettano la caratterizzazione di isolati di *P. carinii*, dalla stessa o da diverse specie ospiti, in base alle proprietà biologiche e a caratteristiche genomiche, isoenzimatiche e antigeniche. In questo ambito il nostro gruppo di ricerca (che è costituito da E. Ortona, P. Margutti, S. Barca e A. Siracusano dell'Istituto Superiore di Sanità e da A. De Luca, P. Mencarini, E. Visconti,

5



M. Zolfo e E. Tamburrini dell'Università Cattolica del Sacro Cuore) collabora con gruppi francesi e danesi nella produzione e caratterizzazione di anticorpi monoclonali specifici per *P. carinii* isolata da differenti specie ospiti (ratto, coniglio, maiale, puledro) e nelle strategie per la messa a punto della coltivazione *in vitro* del microrganismo, che attualmente viene ottenuto prevalentemente da polmoni di ratti infettati sperimentalmente. Inoltre, collabora con il gruppo di ricerca di Parigi diretto da P. Roux, allo scopo di determinare marcatori genetici che permettano la biotipizzazione di isolati di *P. carinii hominis* provenienti da broncolavaggi di pazienti HIV+ italiani e francesi. Abbiamo esaminato le sequenze di quattro regioni del genoma di *P. carinii*: la regione dell'rRNA 5S, il gene della timidilato sintetasi (TS), la regione dell'rRNA del mitocondrio (mt LSU rRNA) e gli spaziatori interni dell'operone dell'rRNA (ITS1 e ITS2). Le regioni ITS1 e ITS2 sono risultate le più significative negli studi di biotipizzazione perché permettono di dividere gli isolati di *P. carinii* in 10 gruppi.

La diagnosi di pneumocistosi avviene di routine mediante la rivelazione diretta del microrganismo nel broncolavaggio con colorazioni specifiche o immunofluorescenza con anticorpi monoclonali, in quanto la PCR viene utilizzata solo in casi dubbi e le tecniche sierologiche non sono applicabili perché anticorpi specifici sono presenti anche nel siero di soggetti sani. Risulta, pertanto, necessario mettere a punto tecniche diagnostiche più sensibili e specifiche (ad esempio la PCR) che permettano l'identifica-

zione del microrganismo in materiali biologici ottenuti con tecniche poco invasive (espettorato indotto, siero, cellule del sangue) ed evitino le cross-reazioni con altri microrganismi. Nell'ambito di questa problematica le collaborazioni mirano all'identificazione dei "primers" più specifici e sensibili da utilizzare in PCR, confrontando l'efficienza di amplificazione di "primers" già conosciuti o cercando di isolarne nuovi per potere rivelare il microrganismo nei liquidi biologici. In un primo studio abbiamo dimostrato la maggiore efficienza di amplificazione dei "primers" della regione mt LSU rRNA rispetto agli altri "primers" utilizzati nella diagnosi e, successivamente, abbiamo evidenziato la mancanza di specificità dei "primers" che amplificano il gene dell'enzima diidrofollato reductasi. I tentativi da noi effettuati per identificare *P. carinii hominis* nel siero e nelle cellule del sangue di pazienti HIV+ con PCP, utilizzando i "primers" dell'mt LSU rRNA e ITS1 e ITS2, hanno dato risultati poco incoraggianti, rendendo finora vano il tentativo di effettuare la diagnosi su questo materiale biologico (studio in collaborazione con A.E. Wakefield di Oxford).

Va comunque sottolineato che non è ancora noto se esista una disseminazione del microrganismo nel sangue ed, eventualmente, in quale stadio della malattia. La messa a punto di un modello animale affidabile e maneggevole di infezione sperimentale di *P. carinii* è indispensabile per questi studi perché l'animale immunosoppresso con corticosteroidi o con altri artifici non permette di studiare adeguatamente le reazioni immunitarie innescate dal contatto

del microrganismo. A questo scopo stiamo studiando l'infezione nel coniglio che è al momento l'unico animale di laboratorio che nei primi mesi di vita presenti una polmonite da *P. carinii* con risoluzione spontanea e successiva comparsa di anticorpi. I primi risultati ottenuti con "nested" PCR specifica per il DNA di *P. carinii* di coniglio, utilizzando "primers" che amplificano mt LSU rRNA, indicano che è possibile rivelare DNA di *P. carinii* unicamente nel broncolavaggio e nei polmoni di conigli giovani, suggerendo una localizzazione esclusivamente polmonare della pneumocistosi primaria. La disseminazione sembrerebbe quindi essere un evento secondario, conseguenza di una immunodepressione severa o di un'alterazione dell'endotelio polmonare.

Durante il 3<sup>rd</sup> *general meeting*, che si è tenuto dal 22 al 25 febbraio 1996 al Centro Congressi dell'Università Cattolica di Roma, è stata anche proposta la creazione di un giornale interno, *Pneumocystis News*, con pubblicazione mensile, allo scopo di fare conoscere, in via informale nel più breve tempo possibile, i risultati dei diversi gruppi di ricerca. Questa iniziativa, ed un'altra riguardante la formazione di una banca per la criopreservazione delle diverse preparazioni di *P. carinii* presso i Laboratori Glaxo di Madrid, rendono evidenti i tentativi che si stanno facendo, in questo Progetto Biomed 1, per ottenere risultati concreti attraverso il più ampio spirito di collaborazione da parte di tutti i partecipanti.



RAPPORTI ISTISA



## Rapporti ISTISAN a cura del Servizio per le attività editoriali

95/36

C. Giacomozzi, V. Macellari, R. Saggini

**Spatial-temporal parameters of gait**

1995, 56 p. (in inglese)

Tra i parametri spazio-temporali del passo esistono relazioni che possono venire alterate da disfunzioni dell'apparato locomotore. I dati acquisiti da circa 600 soggetti sani sono stati utilizzati come banca dati per l'applicazione di metodologie statistiche. Modelli basati sulla regressione lineare multipla, validati su un gruppo di 12 soggetti sani, sono risultati gli strumenti più efficaci nell'analisi della maggior parte dei parametri considerati.

\*\*\*

95/37

A. Di Muccio, D. Attard Barbini, G. De Merulis, L. Vergori, S. Girolimetti, L. Sernicola, R. Dommarco

**Rapporto sulle revisioni di analisi per residui antiparassitari: 1988-1995**

1995, 117 p.

Dal 1988 al 1995 sono state effettuate 1.254 analisi, su campioni di frutta (61%), ortaggi (29%), cereali e derivati (3%). Le analisi hanno riguardato 80 principi attivi diversi, costituiti da fungicidi (51%), insetticidi (31%), antiriscaldamento (8%), antigermoglianti ed erbicidi (5%). I maggiori contributi sono pervenuti da: Emilia-Romagna (35%), Piemonte (15%), Liguria (11%), Toscana (10%). Il tasso di conferma del risultato tra analisi di prima istanza ed analisi di revisione è stato del 64% su tutti i campioni analizzati.

\*\*\*

95/38

**Aspetti tecnico-economici, agronomici, pedologici, igienico-sanitari e normativi dei fanghi di depurazione civile**

A cura di C. Ottavi, M. Ottaviani e A. Figliolia

1995, 233 p.

Si è tentato di fornire un quadro, il più ampio possibile, delle problematiche relative ai fanghi di depurazione civile. Le tematiche trattate riguardano gli aspetti tecnici, le valutazioni tecnico-economiche riferite allo smaltimento, gli aspetti agronomici e pedologici e i diversi problemi di natura igienico-sanitaria. Si è dato anche ampio spazio alle norme che regolamentano la gestione dei fanghi di depurazione in Italia e in Europa.

\*\*\*

95/39

G. Moretti, I. Purificato, P. Cammarata, G. Citti, E. Ferretti, F. Desideri

**Determinazione degli ormoni sessuali naturali nel sangue bovino mediante tecniche radioimmunologiche.**Nota I. Dosaggio del 17  $\beta$ -estradiolo

1995, 21 p.

Viene descritto un metodo radioimmunologico per il dosaggio del 17 $\beta$ -estradiolo nel sangue dei bovini. I risultati analitici mostrano che il metodo è adatto alla determinazione del 17 $\beta$ -estradiolo anche negli animali illecitamente trattati con questo ormone.

\*\*\*

95/40

L. Del Giovine, A. Bocca

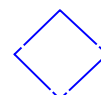
**Nuovi approcci metodologici per la verifica dei trattamenti termici del latte**

1995, 18 p.

La furosina e le sieroproteine solubili sono indicatori del danno termico del latte. L'elettroforesi capillare zonale, HPCE, è una nuova tecnica analitica strumentale ad alta sensibilità che può essere impiegata nell'analisi di furosina e di sieroproteine. Rapidità dell'analisi, alta efficienza, ottima risoluzione dei picchi nell'elettroferogramma, bassi costi operativi rappresentano i vantaggi di questa tecnica nei controlli routinari del latte termicamente trattato.

\*\*\*

5



95/41

**Incidenza e prevalenza delle infezioni da HIV in Italia e previsioni a breve e medio termine.  
Consensus conference. Roma, 23-24 giugno 1994. Atti**

A cura di P. Pezzotti, G. Scalia-Tomba, G. Rezza  
1995, ii, 74 p.

Per far fronte all'esigenza di aggiornare le stime sull'incidenza e sulla prevalenza di AIDS e infezione da HIV in Italia è stata organizzata, per la prima volta, una "Consensus conference" sullo stato dell'epidemia. Si riportano i risultati di modelli matematici, sistemi di sorveglianza e studi osservazionali eseguiti a livello multi-regionale, presentati e discussi da 12 esperti presenti alla riunione di lavoro.

\*\*\*

95/42

**Glossario dei termini di farmacognosia impiegati nella Farmacopea ufficiale italiana**

F.R. Gallo, A. Farina, F.F. Vincieri  
1995, 19 p.

Glossario di termini botanici comunemente e frequentemente utilizzati nella descrizione delle droghe vegetali oggetto di monografie della Farmacopea ufficiale italiana. Il glossario in italiano, con traduzione dei termini in francese e inglese, è volto alla univoca interpretazione dei vocaboli impiegati in materia.

\*\*\*

96/1

**Linee guida per l'assicurazione della qualità nei laboratori preposti al controllo ufficiale dei prodotti alimentari**

E. Coni, L. Croci, R. Draisci, M. Gianfranceschi, B. Pasolino, E. Sanzini, A. Stacchini  
1996, vii, 89 p.

Il documento vuole essere la trasposizione dei principi enunciati nella norma UNI CEI EN 45001 e dei principi OCSE che disciplinano le buone pratiche di laboratorio al settore specifico del controllo dei prodotti alimentari ed è stato redatto allo scopo di contribuire ad uniformare l'organizzazione e le procedure adottate nei laboratori preposti al controllo ufficiale e di fornire indicazioni per la stesura del manuale della qualità del laboratorio. Le linee guida fanno riferimento esclusivamente ai controlli chimici, microbiologici e biotossicologici nel settore degli alimenti.

\*\*\*

96/2

**Varchi magnetici: analisi dei rischi per la salute**

V. Barbaro, P. Bartolini, A. Donato, C. Militello, A. Polichetti, P. Vecchia  
1996, ii, 52 p.

Si presentano i risultati di uno studio sui campi magnetici prodotti da sistemi di prossimità per il controllo automatizzato degli accessi. Accanto ai dati delle misure sperimentali vengono presentati i risultati di calcoli teorici sulle correnti elettriche indotte all'interno del corpo, ed una dettagliata valutazione dei rischi sanitari condotta sulla base di un confronto con le più avanzate normative internazionali. Vengono inoltre analizzati in dettaglio i problemi di interferenza con pacemaker impiantati.

\*\*\*

96/3

**SEIEVA. Integrated Epidemiological System for Acute Viral Hepatitis. Report 1985-1994**

A. Mele, T. Stroffolini, P. Pasquini  
1996, vii, 33 p. (*in inglese*)

Dal 1985 al 1994 è diminuita l'incidenza delle epatiti virali acute A, B e nonA-nonB. I più importanti fattori di rischio per l'epatite A sono il consumo dei frutti di mare e i viaggi in aree ad alta endemia. I fattori di rischio iatrogeni e i rapporti sessuali hanno il ruolo maggiore nella trasmissione delle epatiti parentali. Una forte diminuzione dell'epatite nonA-nonB associata a trasfusione è stata registrata da quando è stato introdotto in Italia il test anti-HCV per i donatori di sangue.

\*\*\*

96/4

**Linee guida per la sorveglianza e il controllo di *Aedes albopictus* in Italia**

R. Romi  
1996, iii, 51 p.

La "zanzara tigre" (*Aedes albopictus*) è stata recentemente importata in Italia ed è attualmente diffusa in molte zone del paese. Sono descritte le caratteristiche biologiche di *Ae. albopictus*, la sua potenzialità come vettore di agenti patogeni per l'uomo, le più comuni tecniche di campionamento e identificazione dei vari stadi biologici e i protocolli per la programmazione e la realizzazione di un piano di sorveglianza con la partecipazione di tutte le strutture competenti del Sistema sanitario nazionale.

