

144

STUDIO MOLECOLARE DELLE FARMACORESISTENZE DI *Mycobacterium tuberculosis* IN CAMPIONI RESPIRATORI

Troupioti P.¹, Zara F.², D'Amato V.³, Meacci F.³, Sarassi A.¹, Brezza R.², Pardini M.⁴, Orrù G.⁵, Ciusa M.L.⁵, Pagani L.², Orefici G.⁴, Fattorini L.⁴, Oggioni M.R.³

¹A.O.V. Azienda Ospedaliera Valtellina e Valchiavenna Presidio di Sondalo, Via Zubiani 33, 23039 Sondalo,

² Sez. Microbiologia, Dip. S.M.E.C., Università di Pavia, Via Brambilla 74, 27100 Pavia

³La.M.M.B., Dip. Biologia Molecolare, Università di Siena, Policlinico Le Scotte, Via Bracci, 53100 Siena

⁴Istituto Superiore di Sanità, Viale Regina Elena 299, 00161 Roma,

⁵O.B.L., Università di Cagliari, Via Binaghi 4, 09121 Cagliari.

Introduzione. La resistenza a isoniazide e rifampicina (TB-MDR, multidrug-resistance) costituisce uno dei problemi più importanti nel controllo e trattamento terapeutico della tubercolosi.

Pertanto sono necessari metodi molecolari utili ad una rapida identificazione di tali mutazioni.

Metodi. 139 campioni di escreato, ottenuti da altrettanti pazienti ricoverati presso l'Azienda Ospedaliera di Sondalo, sono stati analizzati, previa decontaminazione con NALC-NaOH, mediante esame batterioscopico e culturale in Lowenstein-Jensen e MGIT 960. L'analisi molecolare è stata effettuata, dopo valutazione dell'idoneità del campione, con PCR qualitativa con target IS6110, real time PCR con sonde lineari FRET e tipizzazione con MIRU. L'antibiogramma per farmaci di seconda scelta è stato eseguito secondo protocolli standard.

Risultati. I pazienti sono stati suddivisi in "new cases" (NC, 98/139) e "previously treated cases" (PT, 41/139), secondo la definizione dell'OMS. Nel gruppo dei pazienti NC, con i metodi molecolari, la mutazione *rpoB531* responsabile di rifampicina-resistenza è stata rilevata nel 3% dei campioni esaminati, in 1 campione la mutazione *katG315* responsabile della resistenza all'isoniazide; tutti sono stati confermati dall'antibiogramma. La PCR real time sul gene *rpoB* ha evidenziato una popolazione batterica mista (allele wild type e allele mutato) in 3 campioni. Nel gruppo dei pazienti PT, è stata identificata la resistenza alla rifampicina nel 61% dei campioni analizzati, mentre nel 63% la resistenza all'isoniazide. Il 51% dei campioni è risultato MDR. L'antibiogramma ha fornito risultati concordanti. La presenza di una popolazione batterica mista è stata rilevata soltanto in 1 campione.

Conclusioni. L'analisi dei risultati ottenuti evidenzia una ottima concordanza tra i dati clinici e microbiologici e le caratterizzazioni molecolari. L'utilizzo di test rapidi si è dimostrato di facile applicazione al fine di monitorare l'andamento delle farmacoresistenze di *M. tuberculosis*.

145

DIAGNOSTICA MOLECOLARE DELLE BATTERIEMIE IN ONCOEMATOLOGIA

Pasanisi G.¹, Maggio G.¹, Leo L.¹, De Vito F.¹, Pavone E.², Lobreglio G.¹

¹UOC Medicina di Laboratorio, ²UOC Ematologia e Centro Trapianti di Midollo Osseo - A.O. "Card. G. Panico" Tricase (Lecce)

Introduzione. Unitamente all'accuratezza della Microbiologia moderna, i recenti indirizzi di management delle patologie infettive richiedono informazioni sulla eziologia microbica in tempi più brevi soprattutto per i complessi quadri clinici del paziente oncoematologico. Nei rilievi preliminari di seguito riportati sono stati messi a confronto i risultati ottenuti mediante un metodo molecolare recentemente disponibile, in grado di evidenziare batteri e miceti di più frequente riscontro nei quadri batteriemi, e quelli dalle emocolture da pazienti oncoematologici al fine di poter delineare il potenziale diagnostico molecolare.

Metodi. A confronto i rilievi eziologici in 114 eventi febbrili oncoematologici su campioni di sangue periferico mediante PCR Real-Time multiplex LightCycler SeptiFast (Roche) con quelli delle emocolture mediante BacT/ALERT (BioMérieux).

Risultati. La concordanza stimata dei due metodi è stata pari a 82,5%. Positività genomiche discordanti venivano evidenziate per *S. aureus*, *E. coli*, *S. marcescens* e *P. aeruginosa*; tra i miceti un caso, clinicamente e radiologicamente confermata, per *A. fumigatus*. La PCR Real-Time in studio non ha potuto evidenziare un caso di *Cellulomonas* spp ed uno di *M. morgani* (microrganismi non previsti nel pannello). Il metodo molecolare ha evidenziato sensibilità e specificità rispettivamente del 100% e di 80,6%; valori predittivi positivo e negativo rispettivamente pari a 35,5% e 100%.

Conclusioni. Fatta necessaria la prudenza metodologica nella diagnosi delle batteriemi soprattutto nel paziente oncoematologico, il metodo molecolare in studio ha evidenziato una buona concordanza con l'emocoltura, la rilevazione di patogeni a crescita lenta o difficile, una tempestività nella identificazione e l'elevato valore predittivo negativo. Di contro, la specificità dell'applicazione molecolare merita ulteriori approfondimenti nei quadri clinici, di profilassi/terapia, dei siti settici in altri distretti. Di non secondaria importanza, la possibilità di vedere implicati microrganismi non rilevabili dai metodi molecolari e comunque i limiti delle tecniche molecolari per lo studio dell'antibioticoresistenza invitano ad affiancare alla microbiologia culturale i metodi molecolari.