
G080

RIORGANIZZAZIONE E IMPLEMENTAZIONE DI UN SETTORE DI BIOLOGIA MOLECOLARE IN MICROBIOLOGIA

Garlaschi M.C.*, Garlaschi M.L.*, Restelli A.*, Bonamore R.*, Cariani L.*, Scarazatti E*.

*U.O. Microbiologia, Istituti Clinici di Perfezionamento, Milano

Introduzione

L'Azienda Ospedaliera Istituti Clinici di Perfezionamento, è un Ospedale di rilievo nazionale e di alta specializzazione, convenzionato con l'Università degli Studi di Milano. La specializzazione materno infantile si estrinseca in una serie di reparti e servizi rivolti alla tutela della salute, intesa come benessere fisico, psichico e sociale, della mamma e del bambino.

Il progetto prevede la riorganizzazione e la implementazione del settore di biologia molecolare che fa parte del laboratorio di microbiologia.

Obiettivo e fattibilità dello studio

Il progetto comprende lo sviluppo di due protocolli separati (A e B).

Il protocollo A si pone come obiettivo quello di offrire al clinico strumenti di diagnosi più completi.

Il protocollo B si pone come obiettivo quello di approfondire lo studio delle infezioni nosocomiali.

I test diagnostici che ci si propone di sviluppare sono:

- i test per la diagnosi di polmonite da *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae* e *Legionella pneumophila*, nei materiali provenienti dalle alte e basse vie respiratorie.
- i test per la ricerca del Papillomavirus, Herpes virus e *Chlamydia trachomatis*, segnalati in letteratura sia come possibili agenti patogeni di infezioni sessualmente trasmesse sia per il loro legame con l'insorgenza di forme tumorali dell'apparato genitale femminile.
- i test per l'evidenziazione di patogeni nelle meningiti batteriche e virali.
- il test di ribotipizzazione molecolare del DNA batterico per una corretta indagine epidemiologica.

Lo studio di fattibilità del progetto riguarda l'acquisizione di spazi appropriati, di fondi per la strumentazione e per il personale dedicato. Il tempo per la realizzazione del progetto è stimato in 15-20 mesi.

Si stima che il pareggio di bilancio (break even) verrà raggiunto in due anni.

G081

SCHIZOMICETI ISOLATI NELLE OSTRUZIONI CONGENITE DEL DOTTO NASOLACRIMALE

D'Amelio S., Giardini F., Pollino C., Indovina L.

Ospedale Oftalmico di Torino "Divisione di Oftalmologia Infantile" - "Laboratorio Analisi"
Via Juvarrà 19, Torino.

Scopo: individuare gli agenti batterici patogeni nei casi di stenosi congenita del dotto naso-lacrimale (SCDN) nei neonati e nella prima infanzia.

Metodo: abbiamo esaminato una serie consecutiva di 57 pazienti, di età compresa tra 1 mese e 2 anni, giunti alla nostra osservazione nell'arco di un anno (maggio 2002-maggio 2003).

Ad ogni paziente è stato praticato l'esame colturale congiuntivale con un tamponcino di calcio alginato sterile, monouso, previamente imbibito di soluzione fisiologica sterile, passandolo più volte nel fornice congiuntivale inferiore. Il tampone quindi veniva seminato su piastra di Agar Cioccolato + Vitox + Bacitracina per la ricerca anche di germi in microaerofilia come *Haemophilus*; su piastra di Agar Cioccolato semplice da incubarsi in aerobiosi; su piastra di Agar Sangue Columbia per *Streptococcaceae* e *Streptococcus pneumoniae*. Dopo un'incubazione di 48h a 37°C avveniva la lettura e l'identificazione mediante tecniche biochimiche e colorazione GRAM.

Per ciascun ceppo isolato è stato eseguito l'antibiogramma con il metodo Kirby Bauer:

Risultati: 5 casi di coltura negativa; nei 52 casi restanti sono stati isolati in totale 79 ceppi patogeni tra i quali i più frequentemente riscontrati sono *Streptococcus pneumoniae*, 26 ceppi isolati (33%); *Haemophilus* 10 ceppi (11%); *Streptococcus alfa-emolitico* 16 ceppi (20%).

E' significativa la presenza di flora patogena mista nella percentuale del 20%.

Conclusioni: la SCDN è una condizione mono o bilaterale che impedisce in maniera parziale o totale il normale deflusso delle lacrime dal fornice congiuntivale al rinofaringe.

Il ristagno lacrimale favorisce le sovrainfezioni batteriche.

L'individuazione dei ceppi più frequentemente coinvolti e la loro sensibilità agli antibiotici forniscono un aiuto ad Oftalmologi e Pediatri per una corretta antibiotico-terapia.

G082

SIEROIMMUNOLOGIA: DAL DATO ANALITICO AL REFERTO

Martelli P., De Luca R., Crovatto M., Modolo M.L., Villalta D., Reitano M., Cappelletti P.

S.O.S Immunologia clinica e Virologia. Dipartimento di Medicina di Laboratorio
Azienda Ospedaliera Santa Maria degli Angeli Via Montereale Pordenone

Scopo del laboratorio è produrre referti corretti, in tempi adeguati, non ambigui e clinicamente utili. Eventuali commenti interpretativi sono parte essenziale del suo ruolo e dovrebbero essere chiari, succinti e non ambigui (Clinical Pathology Accreditation UK).

Al contrario il referto microbiologico è talora incerto e riflette quella che è la realtà clinica e biologica e non necessariamente rappresenta la risposta definitiva o comunque il prodotto terminale del lavoro.

Si rende pertanto necessario completare quanto ottenuto dalla ricerca richiesta con opportuni commenti che concretizzino un'azione di consulenza e consiglio al Clinico.

Essi infatti possono evitare un'interpretazione non corretta del dato, indirizzare verso eventuali ulteriori percorsi diagnostici e non necessariamente possono rispondere in tutto ai criteri stabiliti dal CPA: se è vero infatti che dovrebbero essere di facile utilizzo, usare termini semplici e dare notizie clinicamente rilevanti, non sempre possono essere succinti o esaustivi.

Più volte è stato preso in considerazione e discusso il ruolo cruciale del Batteriologo nel flusso bidirezionale medico/caso clinico/richiesta ↔ laboratorio /referto, non altrettanto è stato fatto nel caso di altri settori del laboratorio, in sieroimmunologia in particolare.

Questa riveste ancora oggi un ruolo diagnostico fondamentale e non sostituibile in molte patologie infettive di primaria

importanza (infezioni da HIV, Epatiti, Borreliosi, Infezioni in gravidanza , Sifilide ecc.).

Anche in questo campo, l'interpretazione corretta di quanto ottenuto è la somma dei dati clinici del paziente più l'esperienza e la conoscenza delle tecniche, del microrganismo in causa, della epidemiologia, della infezione e della sua storia naturale, della risposta immune e delle possibili variabili a questa connesse. Lo scopo del lavoro quindi diviene ben più ampio che produrre un semplice dato anche se accurato e l'opinione di un esperto adeguata al caso specifico è difficilmente sostituibile da commenti fissi generati automaticamente dal computer.

A supporto di quanto affermato, si riportano pertanto referti già prodotti che documentano come spesso possa essere decisivo il contributo interpretativo come momento importante nella trasformazione del dato analitico in vero referto. I commenti in alcuni casi possono in modo chiaro, conciso e definitivo permettere di rispondere al quesito clinico. In altri casi, pur lasciando spazio all'incertezza o, meglio, a possibilità diverse, possono fornire comunque l'indirizzo per ulteriori indagini e approfondimenti sulla base dei quali raggiungere con maggior probabilità di successo una diagnosi corretta e, se necessario, un iter terapeutico più incisivo. In particolari circostanze infine si ampliano fino a rappresentare vere e proprie lettere al Curante, che ancora una volta testimoniano il compito fondamentale del Microbiologo nella pratica clinica.

G083

VALORE PREDITTIVO DEI FRAMMENTI CAGA, VACA E UREASICO IN UN TEST COMMERCIALE WESTERN BLOT PER H.PYLORI IGG.

Meledandri M., Ballardini M., Spagnesi L., Maiorano S., Cattivelli M., Evangelisti M.E.

U.O.C. Microbiologia e virologia A.C.O. S.Filippo Neri, Via Martinotti 20, 00135 Roma.

Obiettivi. Valutare la risposta IgG contro diversi frammenti di *H.pylori*, al fine di determinare la predittività dei singoli antigeni rispetto alla risposta contro l'intero lisato batterico. **Metodi.** Revisione dei test per *H.pylori* effettuati tra il 1996 e il 2001 (1838 pazienti ambulatoriali sottoposti a Western Blot, per la ricerca delle IgG).

Mediante Helico Blot 2.0 (Genelabs™) sono state evidenziate le IgG contro i frammenti 19.5 Kd, 26.5 Kd (ureasi sub.A), 30 Kd, 35 Kd, 89 Kd (Vaca), 116 Kd (CagA). A ciascuna delle bande è stato attribuito un punteggio (*score*), da 1+ a 4+, riferito alla reattività del controllo positivo.

Risultati. La popolazione ha presentato una prevalenza di *H.pylori* IgG pari al 76% (69% di positivi risolti; 7% di indeterminati).

Il punteggio medio (*mean score*) dei campioni reattivi è stato così ripartito, per ogni banda: 116Kd->2793; 26.5Kd->2121; 30.0Kd->1897; 35.0Kd->1381; 19.5Kd->1276; 89.0Kd->1034. Lo *score* ha fatto risaltare l'eterogeneità della risposta (i valori massimi sono stati associati ai frammenti CagA e ureasico).

I campioni moderatamente reattivi hanno mostrato una prevalenza relativa delle IgG contro le bande 19.5, 26.5 e 30.0 (rispettivamente 45%, 51% e 47% dei positivi).

I campioni fortemente positivi hanno mostrato una prevalenza relativa delle IgG contro la banda CagA (51% dei positivi).

Rispetto ai positivi risolti (criteri Genelabs™), sono state determinate la sensibilità, la specificità, il potere predittivo positivo (PPV) e negativo (NPV) delle bande.

	Sensibilità	Specificità	PPV	NPV
B19.5	51%	74%	86%	32%
B26.5	71%	71%	89%	44%
B30.0	65%	72%	88%	39%
B35.0	42%	76%	85%	29%
B89.0	41%	69%	80%	27%
B116	71%	70%	88%	43%

Conclusioni. Le IgG contro le regioni CagA, VacA e ureasi non sono in grado, singolarmente, di individuare con efficacia l'avvenuta infezione da *H.pylori*.

G084

GR. C E G NELLA FREQUENZA DI ISOLAMENTO DI STREP. B.EMOL. DI T. FARINGEO DI PAZ. AFFERENTI AL LAB. ANALISI FASANO (BR).

Muolo V., Ostuni A.M., Lisi L., *Mosca A., Vinci E.

Dipartimento Medicina di Laboratorio AUSL BR/ I, Via Nazionale dei Trulli, 72015 Fasano (BR).

*Sezione di Microbiologia, Dipartimento MIDIM, Università degli Studi di Bari

Obiettivo

Streptococcus pyogenes è il principale responsabile di faringotonsillite soprattutto in età pediatrica e scolare. Tuttavia altri Streptococchi beta emolitici di gruppo C e G sono ritenuti potenziali agenti di faringotonsilliti recidivanti; inoltre possono determinare aumento del TAS. Scopo del nostro lavoro è stato quello di valutarne l'incidenza nel nostro territorio, essendo queste faringotonsilliti batteriche spesso sottovalutate o misconosciute dal medico.

Materiali e metodi

Sono stati presi in considerazione 866 tamponi faringei da soggetti pediatrici ospedalizzati e ambulatoriali eseguiti nel periodo Gennaio 2001-Maggio 2003. Il tampone faringeo è stato seminato su agar sangue-CNA con aggiunta di dischetto di Bacitracina ed incubazione in anaerobiosi. Le colonie beta-emolitiche sono state identificate utilizzando il test al lattice (Streptococcal Group Kit, OXOID).

Risultati

I tamponi faringei eseguiti sono stati 866, di cui 52 (6,0%) positivi per SBEA, 50 (5,8%) positivi per SBEC e 2 (0,2%) positivi per SBEG.

Conclusioni

I nostri dati indicano che la frequenza di isolamento dello SBEC è pari a quella dello SBEA, mentre la frequenza di isolamento dello SBEG è non significativa rispetto a quella di SBEA e SBEC.

Riteniamo pertanto utile segnalare l'eventuale presenza di questi microrganismi per indirizzare il medico verso una diagnosi di faringotonsillite batterica.