

comunicazioni orali

SESSIONE 6

Technology assessment in microbiologia

Giovedì 4 ottobre 2007, ore 09.00 - 11.00, SALA BIANCA

CO6.1

QUANTIFERON®-TB GOLD: TECHNOLOGY ASSESSMENT PER LA SORVEGLIANZA NEGLI OPERATORI SANITARI

Caola I.¹, Caciagli P.², Guarrera G.M.³, Casna G.⁴

¹Laboratorio di Microbiologia e Virologia

²Dipartimento di Medicina di Laboratorio

³Direzione Cura e Riabilitazione, APSS Trento

⁴Scuola Superiore di Formazione Sanitaria, Rovereto

È stata valutata l'introduzione nell'Azienda Provinciale per i Servizi Sanitari di Trento (APSS) del test QuantiFERON® - TB Gold (QFT-G), in sostituzione dell'intradermo-reazione di Mantoux, finalizzata alla sorveglianza della tubercolosi latente (LTBI) negli operatori sanitari. La gestione della sorveglianza negli esposti al rischio di infezione tubercolare presenta aspetti problematici con la diagnostica tradizionale: bassa specificità del test tubercolinico (TST) per cross-reattività verso micobatteri ambientali e BCG utilizzato per la vaccinazione, effetto "booster," elevata variabilità e scarsa standardizzazione interoperatore nell'esecuzione e valutazione del test, necessità di una doppia presentazione dell'operatore. Il nuovo test misura la quantità di interferone gamma (IFN- γ) prodotto e rilasciato in vitro dai linfociti T stimolati da antigeni di *M. tuberculosis*. È caratterizzato da un unico prelievo di sangue: ciò facilita la compliance degli operatori ai programmi di prevenzione coordinati dal Nucleo del Medico Competente. Numerosi studi hanno dimostrato che la diagnosi di LTBI formulata attraverso l'uso di test in vitro è più sensibile e più specifica rispetto all'approccio tradizionale. Nel 2005 il medico competente dell'APSS ha proposto al CIO di Trento l'introduzione del QFT-G per 900 operatori

(neoassunti, tirocinanti, studenti scuole sanitarie, operatori dopo esposizione a pazienti bacilliferi, a rischio infettivo TBC, con Mantoux non nota o > 5 anni). Dopo pubblicazione delle linee guida del CDC sull'utilizzo del test, il CIO ha richiesto la prestazione al Laboratorio di Microbiologia che ha condotto la valutazione secondo metodologia HTA, analizzando le ricadute organizzative sul servizio ed i costi. La metodica di esecuzione di dosaggio dell'IFN- γ è automatizzabile su strumentazione già in uso; i trasporti e la consegna dei campioni all'unico laboratorio dipartimentale di esecuzione richiedono una attenta pianificazione (intervallo massimo di tempo tra prelievo e inizio del trattamento 16 ore). L'analisi economica ha messo in evidenza come il costo totale del test TST sia maggiore di quello del QFT-G, perché gravato dal costo della mancata prestazione per l'assenza dal posto di lavoro dell'operatore. La valutazione effettuata ha fornito elementi utili per indirizzare il decisore all'introduzione della stessa quale nuova prestazione di laboratorio.

CO6.2

UTILIZZO DI RT-PCR COME METODO DI SCREENING PER STREPTOCOCCO DI GRUPPO B IN DONNE GRAVIDE.

Cavrini F.¹, Serra L.², Liguori G.¹, Pierro A.¹,
Lanari M.², Sambri V.¹

¹DMCSS, Divisione di Microbiologia, Università di Bologna e

²U.O. di Pediatria e Neonatologia, Ospedale S.Maria della Scaletta, Imola (Bologna).

Introduzione. Il tratto gastrointestinale costituisce il "serbatoio" dello streptococco beta-emolitico di gruppo B (SGB) e quindi la fonte della colonizzazione

materna vaginale intrapartum, fattore determinante per l'insorgenza di infezione neonatale "precoce", (Early onset group B Streptococcus disease EOGBSD). Nelle linee guida dei CDC 2002 si raccomanda l'esecuzione dello screening colturale a 35-37 settimane di E.G. per ottenere la migliore correlazione con la colonizzazione al momento del parto e identificare le madri da sottoporre a profilassi antibiotica intrapartum (IAP) al fine di ridurre l'incidenza di EOGBSD. Lo scopo dello studio è stato valutare la corrispondenza tra la colonizzazione materna rilevata a 35-37 settimane di E.G. mediante coltura su tampone vagino-rettale e quella intrapartum rilevata mediante coltura sul tampone vaginale intrapartum (TVI) e Real Time PCR.

Metodi. Nel periodo da giugno 2006 ad aprile 2007, in 117 gravide risultate positive allo screening a 35-37 settimane di E.G. con tampone vagino-rettale, e in 251 risultate negative (368 gravide in totale) è stato raccolto un TVI. Precedentemente all'incubazione di 24 ore nel terreno di arricchimento selettivo Todd-Hewitt, un'aliquota del campione è stata processata per Real Time PCR.

Risultati. Per il 23% delle gravide colonizzate a 35-37 settimane di E.G. è stata confermata la positività per SGB nella coltura intrapartum (CI) mentre la PCR ha evidenziato la positività intrapartum per SGB nel 53%. Analizzando il 30% di discordanza tra PCR e coltura intrapartum in questo gruppo di pazienti positive si è osservato che metà (15%) era dovuto a esecuzione del tampone intrapartum dopo somministrazione di terapia antibiotica rendendo impossibile l'isolamento colturale ma possibile l'identificazione dell'acido nucleico. Nel 7,5% delle donne gravide negative a 35-37 SGB è stato identificato mediante PCR, mentre nel 2,3% è stato isolato in coltura. Valutando la concordanza tra le due metodiche intrapartum, PCR e coltura solo un campione positivo in coltura è risultato negativo in PCR (concordanza positiva del 97%) mentre la concordanza negativa è del 85%.

Conclusioni. La PCR ha dimostrato ottima concordanza con la coltura intrapartum e una concordanza con lo screening alla 35-37 settimana del 53% nel gruppo di donne colonizzate e del 92,3% nel secondo gruppo. La discordanza riscontrata tra la positività della coltura a 35-37 settimane e la positività intrapartum può essere in parte riferita alla maggior sensibilità del tampone vagino-rettale rispetto al vaginale e in parte a una variazione nello stato di colonizzazione della donna gravida.

CO6.3

USO DELLA TECNICA rep-PCR PER LA TIPIZZAZIONE MOLECOLARE DI CEPPI DI MICOBATTERI APPARTENENTI AL MYCOBACTERIUM AVIUM COMPLEX

Manfredini C.¹, Russo C.¹, Bellocchi M.C.¹, Tortoli E.², Menichella D.¹

¹U.O. di Microbiologia Dipartimento dei Laboratori, Ospedale Bambino Gesù, Roma

²Centro Regionale di Riferimento per i Micobatteri, Ospedale Careggi, Firenze

Introduzione. I micobatteri non tubercolari (MOTT) sono germi ubiquitari, patogeni opportunisti, responsabili di infezioni localizzate o disseminate specialmente nel soggetto immunocompromesso. Nei pazienti pediatrici, le specie appartenenti al *Mycobacterium avium* complex (MAC) rappresentano una delle cause più frequenti di infezioni da MOTT, anche in assenza di immunocompromissione. Il MAC rappresenta un gruppo eterogeneo di organismi, al cui interno si distinguono due specie principali (*M. avium* e *M. intracellulare*) e un gruppo di micobatteri correlati denominati *M. non-avium-non-intracellulare*. Recentemente è stata sviluppata una piattaforma integrata, standardizzata e semi-automatica, basata sul principio della repetitive-sequence PCR (rep-PCR). Nel nostro studio abbiamo valutato la capacità discriminante della tecnica di rep-PCR su ceppi appartenenti al MAC al fine di definire la possibilità di utilizzare tale sistema come strumento molecolare rapido di tipizzazione e fingerprinting.

Metodi. 89 isolati da colture di micobatteri, sono stati identificati mediante sequenziamento genomico del gene 16S rDNA (500bp). 29 *M. avium*, 60 *M. intracellulare* e *M. non-avium-non-intracellulare* sono stati tipizzati mediante rep-PCR utilizzando una piattaforma integrata con rilevazione su "chip" ed elaborazione statistica informatizzata dei frammenti amplificati (DiversiLab System)

Risultati. Il sistema automatico rep-PCR è stato in grado di differenziare all'interno del MAC.

In particolare: tra gli isolati di *M. avium* è stato rilevato un alto grado di similarità (>95%), mentre tra gli isolati di *M. intracellulare* e *M. non-avium-non-intracellulare* la similarità scende al 70% benché siano evidenziabili alcuni sotto-clusters ad elevata omologia.

Conclusioni. La tecnica di rep-PCR ha confermato l'identificazione genotipica. La tipizzazione a livello di ceppo ha mostrato un alto grado di omologia per le specie di *M. avium* in studio. Di contro è stato dimostrato un alto potenziale discriminativo per gli isolati di *M. intracellulare* e *M. non-avium-non-intracellulare*.