

relazioni

SESSIONE 5

La diagnostica molecolare in batteriologia: attualità e prospettive

Mercoledì 20 Settembre 2006, ore 09.00-13.00, Sala GIALLA

S5.1

L'EVOLUZIONE DELLA BATTERIOLOGIA ALLA LUCE DELLA BIOLOGIA MOLECOLARE

Cassone A.

Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie e Immunomediata, Istituto Superiore di Sanità, Roma

La diagnostica microbiologica continua a costituire, insieme allo sviluppo diagnostico in altri settori (vedi oncoproteomica) la vera rivoluzione nelle malattie infettive, in alto contrasto con la scarsità di nuovi antibiotici e approcci terapeutici e le usuali difficoltà e lentezze nella generazione ed uso di nuovi vaccini.

Le prospettive sono chiare: una diagnosi comprensiva di vari agenti microbici su sistemi miniaturizzati e di facile esecuzione e lettura nel laboratorio se non a letto del paziente.

Questa prospettiva non data fra 20 o 30 anni bensì fra 3 - 5 anni: rimangono insoluti e richiedono attenta considerazione i problemi di validazione dei diversi arrays genomici e proteomici nonché la sempre difficile integrazione fra i dati di laboratorio e l'esperienza clinica.

S5.2

IDENTIFICAZIONE RAPIDA DI AGENTI DI BIOTERRORISMO IN SITUAZIONI DI EMERGENZA

Carattoli A.

Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie ed Immuno-Mediata, Istituto Superiore di Sanità-Roma

In accordo con le linee guida internazionali (Centers

for Disease Control and Prevention, CDC) e nazionali (Istituto Superiore di Sanità, ISS), la diagnosi microbiologica di patogeni batterici di classe A potenzialmente utilizzati a scopo bioterroristico è organizzata in livelli progressivi di accertamento e conferma. Nel caso di sospetto isolamento di patogeni tipo *Bacillus anthracis* o *Yersinia pestis*, i ceppi vengono analizzati per la conferma definitiva da un laboratorio di riferimento nazionale. Durante l'attacco bioterroristico negli USA, in Italia sono state elaborate linee guida per il potenziamento diagnostico di agenti patogeni potenzialmente utilizzabili a scopo bioterroristico ed è stata creata una rete di laboratori di riferimento in grado di fornire una diagnosi definitiva ed eventualmente una tipizzazione molecolare dei ceppi isolati. In questo ambito, il gruppo di lavoro sul bioterrorismo ISS ha messo a punto metodi molecolari basati sull'amplificazione per PCR ed ibridazione con sonde specifiche (Real-time PCR) per il riconoscimento e la caratterizzazione di *B. anthracis* e *Y. pestis*. In particolare, è stato messo a punto un protocollo diagnostico basato sulla rilevazione diretta di spore di *B. anthracis* nei tamponi nasali, mediante arricchimento in brodo, sterilizzazione in autoclave e rilevazione di geni specifici per Real-time PCR. Sono state disegnate coppie di primer utili all'identificazione definitiva di *B. anthracis* e *Y. pestis*. Altri primers sono utilizzati per discriminare il ceppo Sterne (ceppo vaccinale veterinario) dai ceppi selvatici isolati in Italia e dal ceppo Florida isolato negli USA dal primo caso di antrace polmonare nel 2001. Sono anche disponibili sonde che distinguono il *B. anthracis* da altre specie del genere *Bacillus*, compreso il *B. cereus* e amplificazioni specifiche per il riconoscimento rapido di *Yersinia* di altre specie più comuni dalla *Y. pestis*.

Per la tipizzazione dei ceppi sono state messe a punto tecniche innovative di rilevazione di loci polimorfici nel genoma di *B. anthracis* e di *Y. pestis*. Questo tipo di analisi è utilizzabile in caso di attacco bioterroristico come indagine per la ricerca della sorgente e per la comparazione di ceppi isolati dai vari casi clinici e dal-