

142

VALUTAZIONE DEL SISTEMA MOLECOLARE *SeptiFast*[®] NELL'IDENTIFICAZIONE DI MICRORGANISMI RESPONSABILI DI SEPSI

Pagani E.¹; De Fina G.¹; Moser B.²; Pagani L.³; Cavattoni I.⁴; Fumiani M.⁵ e Larcher C.¹

¹Laboratorio di Microbiologia e Virologia,

²Dipartimento di Terapia Intensiva,

³Divisione di Malattie Infettive

⁴Dipartimento di Ematologia e Trapianto di Midollo Osseo Azienda Sanitaria dell'Alto Adige, Comprensorio Sanitario di Bolzano, via Boehler 5, I-39100 Bolzano,

⁵Field Scientific Specialist, Roche Diagnostics SpA, via G.B. Stucchi 110, 20052 Monza (MI)

Introduzione. Lo studio si è proposto di valutare potenzialità e affidabilità del sistema *SeptiFast*[®] (Roche Diagnostics) nell'ambito dell'identificazione molecolare di microrganismi coinvolti nell'eziologia delle sepsi, al fine di favorire l'individuazione di terapie mirate in tempi brevi.

Metodi. Nel periodo di prova di tre settimane sono state condotte circa 100 reazioni di RT-PCR, riferite a 30 campioni, di cui 20 reali sospetti d'infezione sistemica, riferiti a pazienti ricoverati nei reparti di Rianimazione, Malattie Infettive ed Ematologia e 10 simulazioni, ovvero prelievi di sangue (una provetta per emocromo da 3 ml) a cui sono state artificiosamente aggiunte sospensioni batteriche, note per carica e specie; nel caso dei sospetti reali, è sempre stata condotta l'analisi dell'emocoltura tradizionale.

Risultati. I risultati ottenuti hanno dimostrato affidabilità per quanto riguarda le caratteristiche di specificità del metodo e implicazioni decisamente interessanti, data l'effettiva possibilità di condurre le indagini in sei ore. Relativamente ai sospetti reali non sono stati evidenziati risultati discordanti tra quanto ottenuto con l'emocoltura tradizionale e il metodo molecolare, che non trovassero una spiegazione plausibile. Relativamente alle 10 simulazioni, il sistema ha dimostrato affidabile specificità e sensibilità, evidenziando corrispondenza tra quanto artificiosamente inoculato e quanto rilevato, ad eccezione di un ceppo di *C. krusei*.

Conclusioni. Sulla base di tali evidenze, abbiamo potuto stabilire l'adeguatezza della tecnologia proposta per quello che concerne le nostre esigenze, sia per le caratteristiche di sensibilità e specificità, che in relazione all'effettiva possibilità di fornire un risultato in sei ore dal momento d'inizio del processamento del campione con tempestiva introduzione di una terapia farmacologica mirata.

143

LA MALATTIA DI WHIPPLE: DIAGNOSI DI LABORATORIO

Paglia M.G., Pucillo L.P., Toffoletti A., Visca P.

Unità di Microbiologia Molecolare, Istituto Nazionale per le Malattie Infettive "Lazzaro Spallanzani", IRCCS, Roma. pagliamicromol@inmi.it

Introduzione. La Malattia di Whipple (MW) è un raro disordine infettivo ad andamento cronico descritto nel 1907 da G.H. Whipple. La MW è causata da un batterio gram positivo, denominato *Tropheryma whipplei* (TW). Il più frequente segno di presentazione è una sindrome da malassorbimento intestinale. I sintomi e i segni della malattia sono polimorfi a seconda di quali organi sono colpiti e dallo stadio della malattia. Nella maggior parte dei casi la diagnosi è fatta attraverso una valutazione istopatologica del tessuto infetto. La terapia antibiotica è essenziale per eradicare il batterio. Le recidive dell'infezione sono possibili, pertanto un programma di follow-up si rende necessario. Con la microscopia elettronica TW si è ritrovato in quantità notevoli nei tessuti affetti. Nel 1997 è stata ottenuta da Schoeden et al. la riproduzione del microrganismo in colture tissutali, utilizzando interleuchina-4 per inattivare i macrofagi.

Metodi. Dal luglio 2000 al marzo 2007 sono stati esaminati 142 campioni biologici di diversa tipologia (liquor, sangue periferico, biopsie paraffinate di intestino e feci) di 54 pazienti pervenuti al nostro laboratorio da reparti ospedalieri e da ambulatori distribuiti sul territorio regionale e nazionale. Il DNA estratto da ciascun campione è stato saggiato con semi-nested PCR avente come bersaglio il gene *hsp-65* di TW.

Risultati. La diagnosi molecolare ha evidenziato nel 10.5% (15/142) dei campioni biologici analizzati la presenza di acido nucleico dell'agente batterico indagato. Ciò ha consentito di accertare in 10/54 pazienti (18.5%) la MW. Per questi pazienti è stata iniziata una appropriata terapia antibiotica. Il programma di follow-up a medio e lungo termine è ancora in corso.

Conclusioni. Abbiamo ottenuto risultati positivi in molti tessuti, feci e nel liquor e la PCR si è dimostrata più sensibile e specifica di altre tecniche. L'applicazione della metodica PCR per la ricerca di TW ne ha modificato il percorso diagnostico. Attualmente è il metodo diagnostico di scelta ed è riconosciuta come il miglior strumento per monitorare la progressione della malattia.