

160

### RICERCA DEL GENE *mecA* MEDIANTE REAL-TIME PCR IN *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Grasso S., Kroumova V., Caroppo M. S., Grossini E., Macaluso P., Fonio P., Fortina G.

Azienda " Ospedale Maggiore della Carità" - Novara -  
Laboratorio Microbiologia e Virologia

**Introduzione.** Gli stipti di *Staphylococcus aureus* resistenti alle penicilline sintetiche (meticillina, oxacillina,) vengono contrassegnati con la denominazione MRSA (*S.aureus* meticillina resistente). Virtualmente tutti gli MRSA producono PBP (penicillin-binding protein) e PBP 2a (codificata dal gene *mecA*) che conferiscono resistenza a tutti gli agenti beta-lattamici disponibili.

La rilevazione del gene *mecA* è il metodo fondamentale per la rilevazione di meticillino-resistenza.

Roche Diagnostics ha sviluppato un kit Lightcycler in PCR Real-time per la rilevazione di tale gene.

Scopo del lavoro è verificare l'applicabilità in un laboratorio di microbiologia delle nuove tecniche di biologia molecolare in real-time PCR rispetto al metodo tradizionale di Kirby-Bauer.

**Metodi.** Sono stati analizzati 80 ceppi di *S.aureus* a partire da materiali diversi. L'analisi dei campioni è stata effettuata sia con lo strumento LightCycler (Roche) sia con il metodo tradizionale Kirby-Bauer.

**Risultati.** Su 80 ceppi di *S.aureus* analizzati, 31 sono risultati resistenti alla meticillina e 32 hanno evidenziato la presenza del gene *mecA*. In un unico caso si è avuta una discordanza con positività per il gene *MecA* e negatività per la meticillino-resistenza. Complessivamente si è evidenziata una concordanza nel 98.8% dei casi e una discordanza nel 1.2% dei casi.

**Conclusioni.** La metodica molecolare presenta vantaggi rispetto a quella tradizionale soprattutto per i tempi rapidi di effettuazione e, probabilmente, per la sensibilità. Inoltre la rapidità del test consentirà di attivare un processo tendente a ridurre l'incidenza di ceppi meticillino-resistenti e di meglio indirizzare la terapia antibiotica con significative ripercussioni per il paziente ed un migliore utilizzo delle molecole antibiotiche stesse.

161

### MUTAZIONI ASSOCIATE A FARMACORESISTENZA NEL PLASMA E NEI LINFOCITI DI SOGGETTI HIV-1 SIEROPOSITIVI

Alessandrini F.; Bon I.; Gorini G.; Schiavone P.; Vitone F.

D.M.C.S.S. Sez. di Microbiologia, Università di Bologna,  
Osp. S.Orsola-Malpighi, via Massarenti 9, 40138 Bologna.

**Introduzione.** La determinazione della farmaco-resistenza, diventata uno strumento fondamentale per l'ottimizzazione della terapia nel soggetto HIV-1 infetto, viene di norma eseguita sul plasma del paziente in esame. Bisogna però tenere in considerazione, che il virus, sin dai primi stadi dell'infezione, è in grado di latentizzarsi in alcuni distretti anatomici (*reservoirs* virali), protetti sia dall'intervento immunologico che farmacologico.

Scopo della nostra ricerca è stato quello di verificare la presenza di mutazioni conferenti farmacoresistenza sia nel compartimento plasmatico sia in quello cellulare in un gruppo di soggetti HIV-1 infetti e mai sottoposti a terapia antiretrovirale, al fine di fornire al clinico uno strumento per una gestione terapeutica personalizzata del singolo paziente.

**Metodi.** Sono stati analizzati i profili di resistenza nei linfonociti e nel plasma di 31 pazienti, naive al trattamento antiretrovirale, utilizzando il kit TRUGENE HIV-1 GENOTYPING (Bayer).

**Risultati.** Il sequenziamento diretto (regione RT) dell'RNA plasmatico pur avendo dimostrato la presenza del virus *wilde type* nella maggior parte dei campioni, ha messo in evidenza in sei campioni una serie di mutazioni conferenti farmacoresistenza nei confronti dei NRTI e NNRTI; mentre a livello della regione della PR si è rilevata la presenza di una serie di polimorfismi e mutazioni secondarie, non direttamente collegate a fenomeni di resistenza. D'altro canto, la presenza di *sequenze virali archiviate* che albergano mutazioni chiave è stata messa in evidenza esclusivamente quando l'analisi genotipica veniva effettuata a livello dei PBMCs.

**Conclusioni.** L'analisi genetica di pazienti mai trattati farmacologicamente ha messo in evidenza un numero contenuto di mutazioni primarie e di polimorfismi, la cui presenza sottolinea comunque l'importanza di eseguire un test di genotipizzazione prima di iniziare un trattamento antivirale; inoltre, di particolare interesse, la possibilità di verificare la presenza di mutazioni "archivate" a livello cellulare (non altrimenti evidenziabili) rappresenta un passo importante per un corretto ed efficace monitoraggio farmacologico.