

Bionumerics 2.5, hanno evidenziato una riproducibilità del 100% presentando profili identici degli stessi isolati in esperimenti diversi. Sono stati identificati 18 fingerprints costituiti da 6-10 frammenti e dei 44 ceppi esaminati sono stati individuati 6 clusters. Questi risultati sono stati confermati da RFLP-IS6110 e da PFGE evidenziando un'identica sensibilità fra i tre metodi.

La tipizzazione automatica RFLP-IS6110 mediante RiboPrinter® è un metodo sicuro, riproducibile, di facile esecuzione per la tipizzazione dei ceppi di *M. tuberculosis* e può essere utilizzata per l'identificazione e il monitoraggio in tempi brevi delle epidemie.

G062

IDENTIFICAZIONE E RESISTENZA AGLI ANTIBIOTICI DI CEPPI BEN CARATTERIZZATI ANALIZZATI IN LABORATORI LIGURI

Lemmi M¹., Dho G., Manno G², e. Debbia E.A³ per AMCLI LIGURIA

Lab Analisi Ospedali Galliera, Laboratorio Ricerca e Diagnostica Infettivologica Di.Pe. Istituto G.Gaslini, Sez. Microbiologia DiSCAT, Università di Genova

Uno studio è stato attivato in Liguria per valutare lo stato dell'arte dei laboratori di microbiologia sull'identificazione e sull'accertamento di ben caratterizzate resistenze agli antibiotici.

A tal scopo, 26 ceppi oltre quelli ATCC per controllo, sono stati inviati ai laboratori pubblici e privati che ne avevano fatto richiesta. Solo 7/19 (36.8%) dei centri hanno analizzato tutti i ceppi inviati e 4/19 (21%) hanno eseguito i test su circa la metà dei ceppi. I sistemi più utilizzati sono stati il Vitek e l'Api/ATB. *Staphylococcus aureus* resistente all'oxacillina: il 24% dei test non hanno correttamente evidenziato la resistenza specialmente il ceppo mecA inducibile. *S.haemolyticus*, buona la percentuale delle identificazioni a livello di specie, la valutazione della sensibilità alla teicoplanina è stata elevata 63%. Enterococchi: l'identificazione a livello di specie non è stata brillante (35% non corrette), gli errori si sono concentrati in *E.faecium* e *E.gallinarum*; per la vancomicino-R invece l'85% dei lab che hanno eseguito il test hanno dato un risultato corretto. *S.pneumoniae*: la sensibilità a penicillina ed eritromicina è stata eseguita rispettivamente dal 43% e 36% dei laboratori, con solo il 2% di errori per il primo antibiotico, mentre per eritromicina l'incidenza è stata 7%. Il fenotipo di resistenza è stato riportato solo da 2 laboratori che hanno eseguito il test con la metodica del doppio dischetto. *S.pyogenes*: per il saggio della eritromicino-R valgono le stesse considerazioni di *S.pneumoniae*. ESBL: è alto il numero di risultati non corretti, pari al 47%.

In definitiva molti Laboratori risentono sia delle restrizioni finanziarie, sia del peso della routine che molto spesso condiziona l'esito del saggio. I ceppi inviati per lo studio sono piuttosto rari e quindi di difficile approccio, ma se non identificati correttamente possono dar luogo ad effetti devastanti. Questo studio che continuerà, porterà certamente grossi benefici a tutti i laboratori coinvolti.

G063

DIAGNOSI DI LABORATORIO DI BORRELIOSI, LEPTOSIROSIS E SIFILIDE MEDIANTE METODI MOLECOLARI AVANZATI

Calderaro A., Piccolo G., Bommezzadri S., Incaprera M., Zuelli C., Guégan R., Arcangeletti M.C., Medici M.C., Dettori G., Chezzi C.

Dipartimento di Patologia e Medicina di Laboratorio, Sezione di Microbiologia, Università di Parma, Viale Gramsci 14, 43100 Parma.

Introduzione. Indagini molecolari avanzate si stanno dimostrando sempre più utili nella diagnosi di infezione da microrganismi patogeni di interesse medico, quando opportunamente affiancate a quelle tradizionali, dirette (microscopia e coltura) e indirette (sierologia). Al fine di migliorare sensibilità, specificità ed efficacia dei saggi per la diagnosi di laboratorio di infezione da spirochete patogene è stato deciso di introdurre nel nostro laboratorio, reazioni di PCR per la rivelazione del DNA di *Borrelia burgdorferi sensu lato*, *Leptospira spp.* e *Treponema pallidum*, rispettivamente.

Materiali e metodi. Sono state ampiamente valutate sensibilità, specificità ed efficacia dei tre saggi seguenti: il primo (nested-PCR in singolo tubo) allestito in casa per amplificare un frammento genico di *Borrelia burgdorferi sensu lato*; il secondo (nested-PCR "16SrRNA") allestito in casa per amplificare un frammento genico di *Leptospira spp.*; il terzo (nested-PCR "Treponema pallidum <bmp>", Amplimedical S.p.A.) saggio commerciale per amplificare un frammento del gene "bmp" che codifica per una proteina di membrana del batterio.

Risultati e conclusioni. I saggi di PCR si sono tutti rivelati altamente sensibili, specifici ed efficaci. Il saggio nested-PCR in un singolo tubo potrà essere applicato sia nella diagnosi di laboratorio rapida di malattia di Lyme al fianco delle procedure tradizionali come l'esame colturale, lungo e indaginoso, e l'esame sierologico, poco sensibile e poco specifico, sia per escludere l'infezione in casi di sospetta borreliosi. Il saggio "16SrRNA" è risultato essere un efficace strumento diagnostico da applicare alla diagnosi di laboratorio di leptosirosi, specialmente durante i primi giorni dell'infezione quando altri saggi diagnostici risultano poco sensibili e poco specifici. Infine, il saggio "Treponema pallidum <bmp>", data l'impossibilità di coltivare il batterio *in vitro*, può assumere un ruolo fondamentale nella diagnosi dei casi di lue nei quali le indagini sierologiche sono di dubbia interpretazione o non applicabili, sia per escludere l'infezione in casi sospetti.