

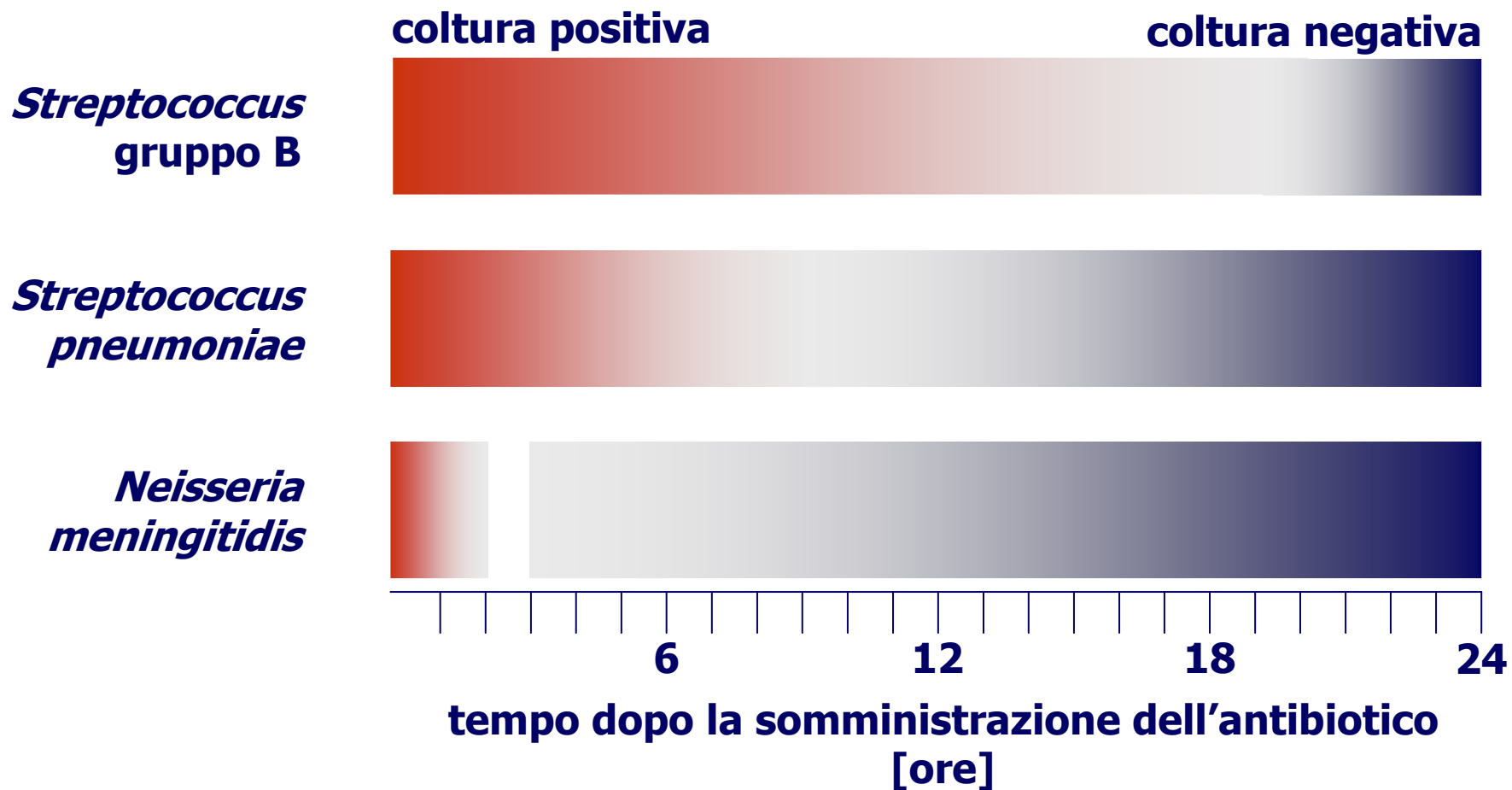
Diagnosi e tipizzazione di IPD in biologia molecolare direttamente da campione clinico in pazienti con terapia antibiotica in atto

Cristina Massai
Clinica Pediatrica II
Ospedale Meyer
Università di Firenze

Caserta 31 maggio 2008

tempo di sterilizzazione del liquor cefalo-rachidiano dopo somministrazione di antibiotico per via parenterale

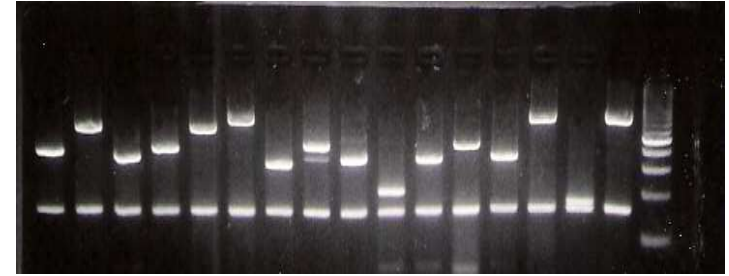
Kanegaye JT *et al.* Pediatrics 2001; 108: 1169-1174



Coltura



PCR



Richiede

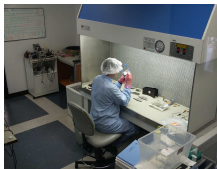
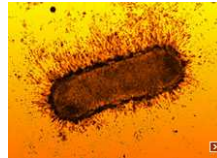
germe vivo

non terapia antibiotica
precedente

terreni di coltura adeguati

trasporto rapido

laboratorio microbiologia



germe anche morto

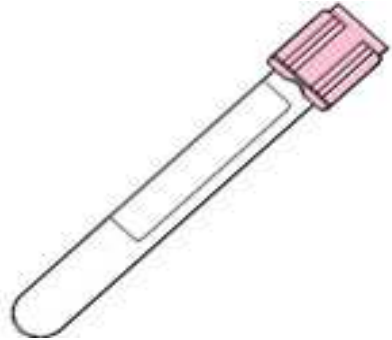
OK se terapia antibiotica
precedente

anche in fisiologica
anche campione "già usato"

a t°C ambiente anche 48h

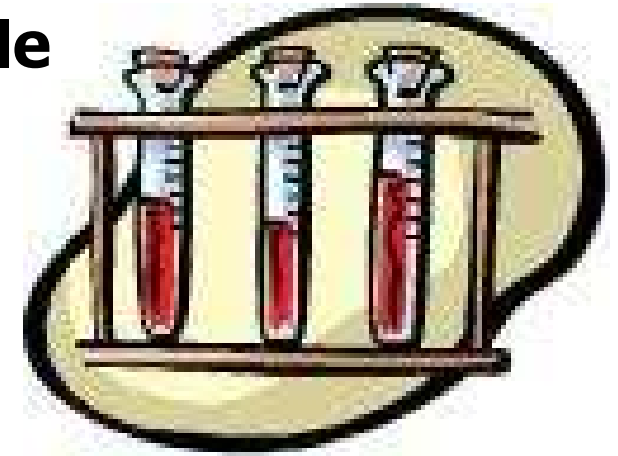
tecniche e macchinari semplici

Sierotipizzazione: PCR- Multiplex Sequenziale



Si parte da sangue intero

Si estrae il DNA



Primers per:

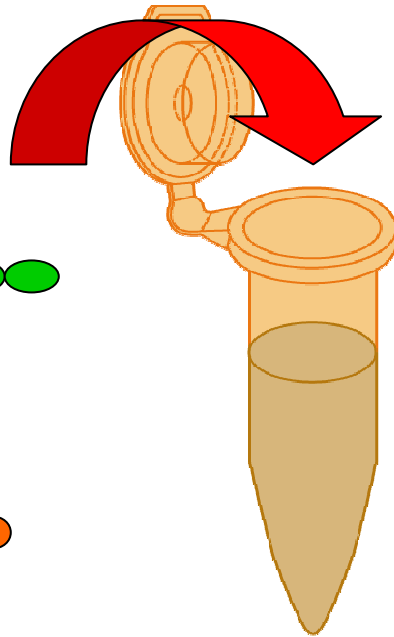
6B

9V

14

23F

altri



Nucleotidi

Enzimi

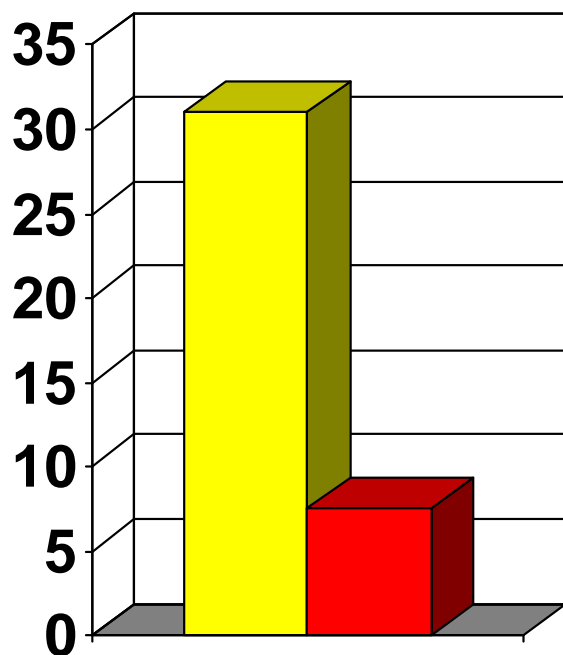
DNA estratto



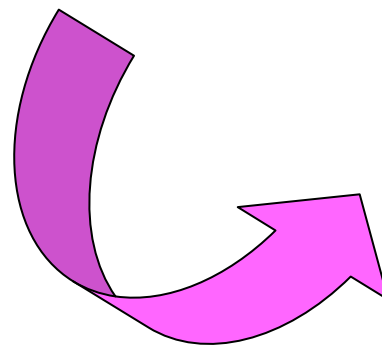
Diagnosi e sierotipizzazione mediante PCR multiplex sequenziale di infezioni pneumococciche in età pediatrica (BP + meningiti/sepsi)

Paz. con pregressa terapia antibiotica

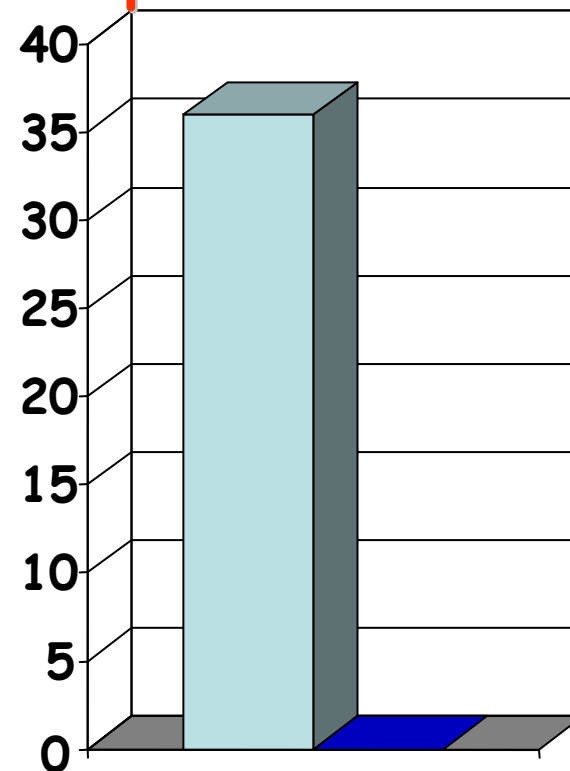
% di casi positivi



25/98 hanno fatto breve terapia antibiotica prima del ricovero



% di casi positivi

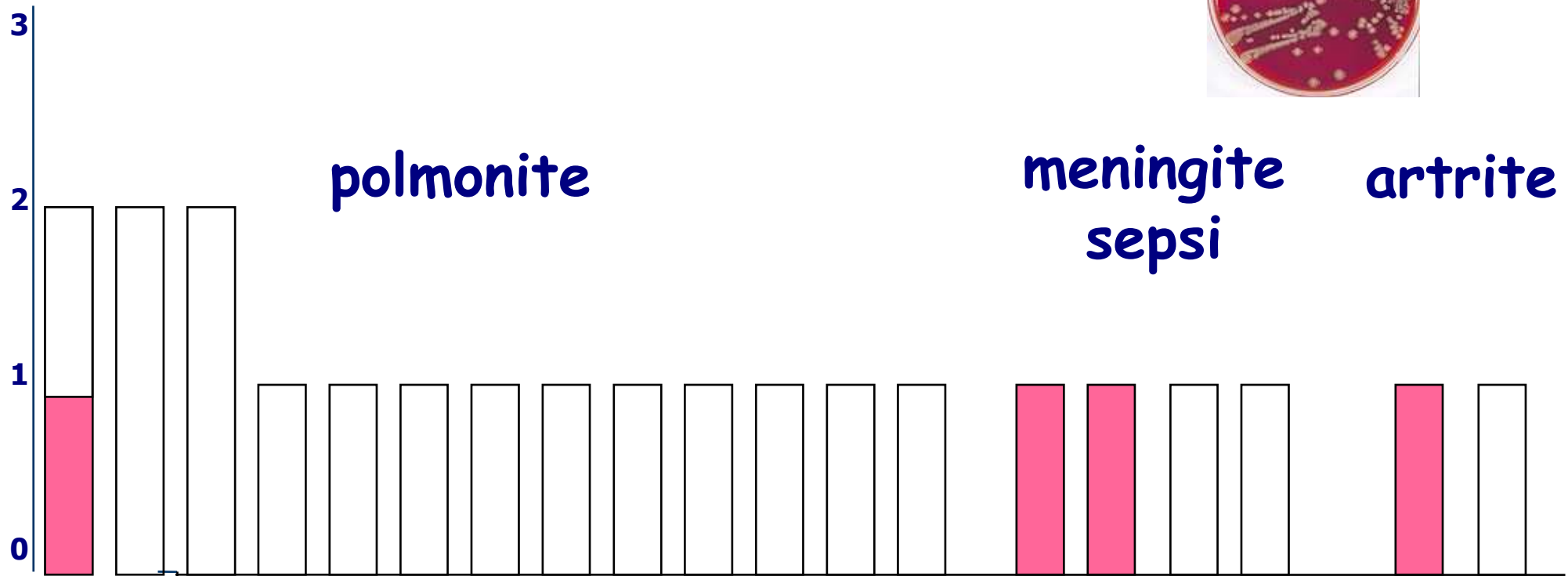


RT-PCR n: 22/98
Coltura n: 4/98

RT-PCR n: 9/25
Coltura n: 0/25

Distribuzione dei sierotipi isolati in corso di malattie invasive del bambino

Esame colturale

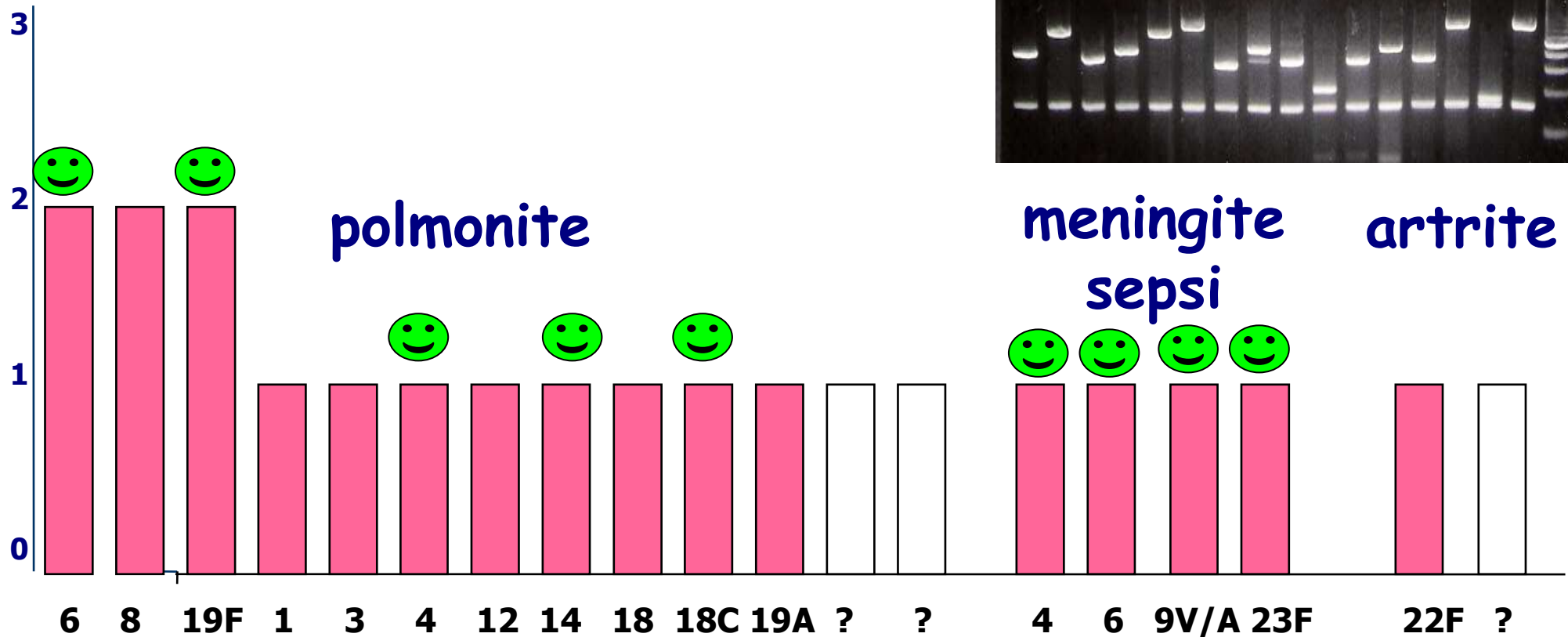


Sierotipo contenuto nel vaccino eptavalente

Azzari C, Moriando M,
Massai C, Resti M.
J Med Microbiol 2008

Distribuzione dei sierotipi isolati in corso di malattie invasive del bambino

Esame PCR



Sierotipo contenuto nel vaccino eptavalente

Azzari C, Moriondo M,
Massai C, Resti M.
J Med Microbiol 2008

Parliamo di costi.....

Un apparecchio per real-time PCR 25.000 €

Un apparecchio per PCR standard 5.000 €



(gli stessi che usiamo per HCV, HIV, CMV)

Un test di diagnosi 5 €

Un test di sierotipizzazione 12 €

La sola sierotipizzazione da coltura costa 45 €

Progetto sorveglianza nazionale delle infezioni invasive Meningococco, pneumococco, Haemophilus

Miglioramento della possibilità di diagnosi mediante biologia molecolare

I fase

Sensibilizzazione al problema

Centralizzazione presso l'Ospedale Meyer dei
campioni per diagnosi

II fase

Diffusione delle metodiche diagnostiche molecolari
a tutte le regioni



Chiamare TRACO 10 - Tel. 803-868

**La spedizione del campione è gratuita (a carico del destinatario)
Indicare “PORTO ASSEGNATO”**



**Progetto Malattie Invasive
Laboratorio Immunologia Meyer
Viale Pieraccini 24
50139 FIRENZE**

progetto.malattieinvasive@meyer.it

L'esecuzione del test è gratuita

c.azzari@meyer.it

m.resti@meyer.it

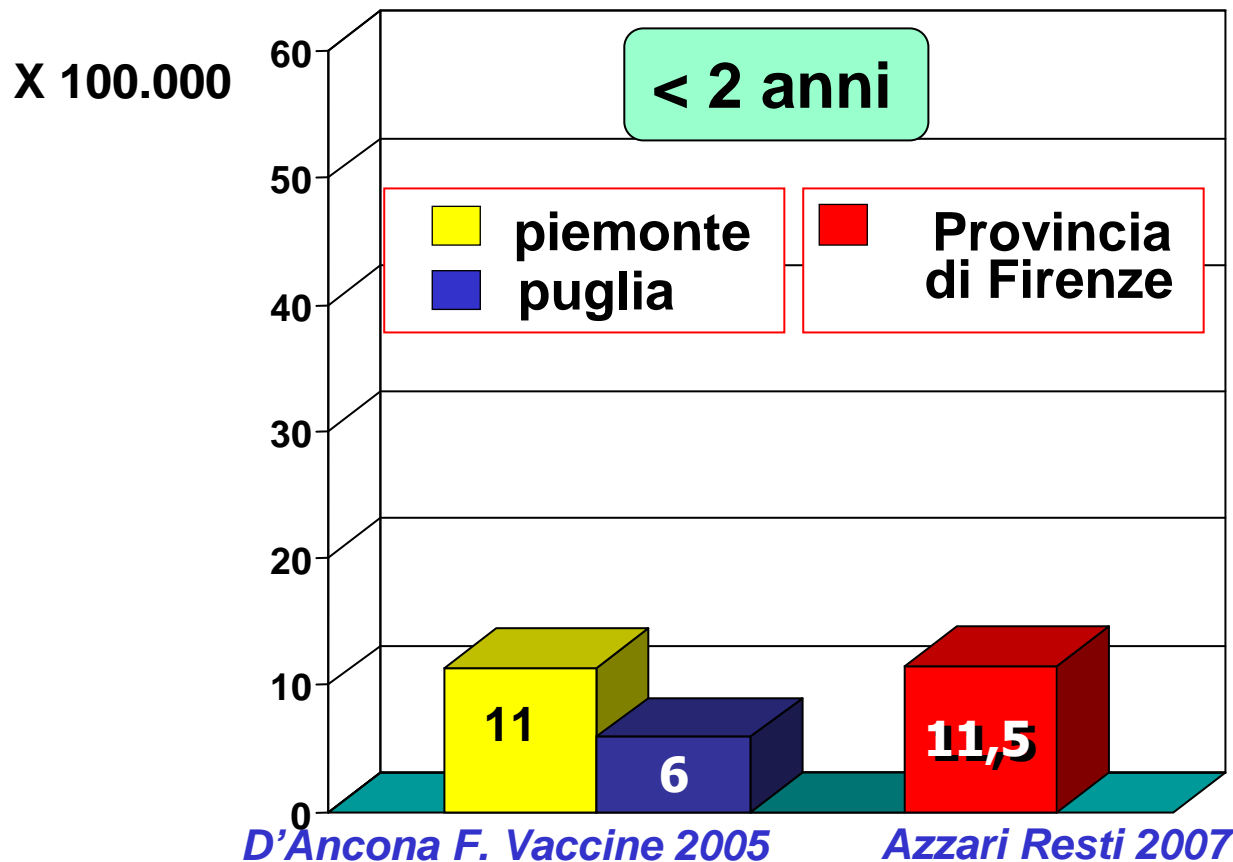
**La risposta viene inviata via FAX
all'ospedale richiedente entro 48 ore
dall'arrivo**

Grazie per l'attenzione!!!!



Incidenza di infezioni invasive pneumococciche (IPD) valutata con PCR o mediante coltura

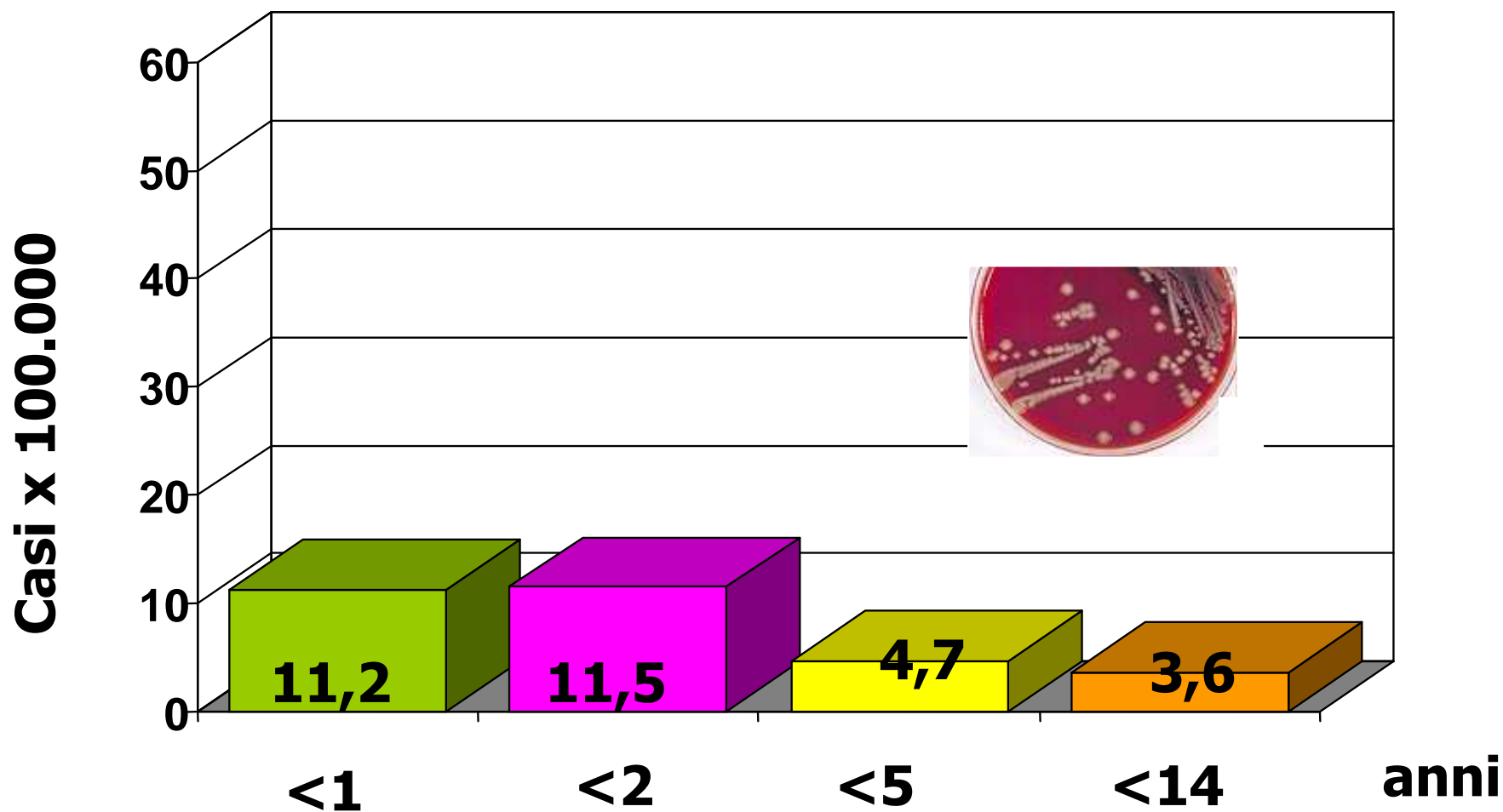
IPD in bambini italiani valutata con coltura



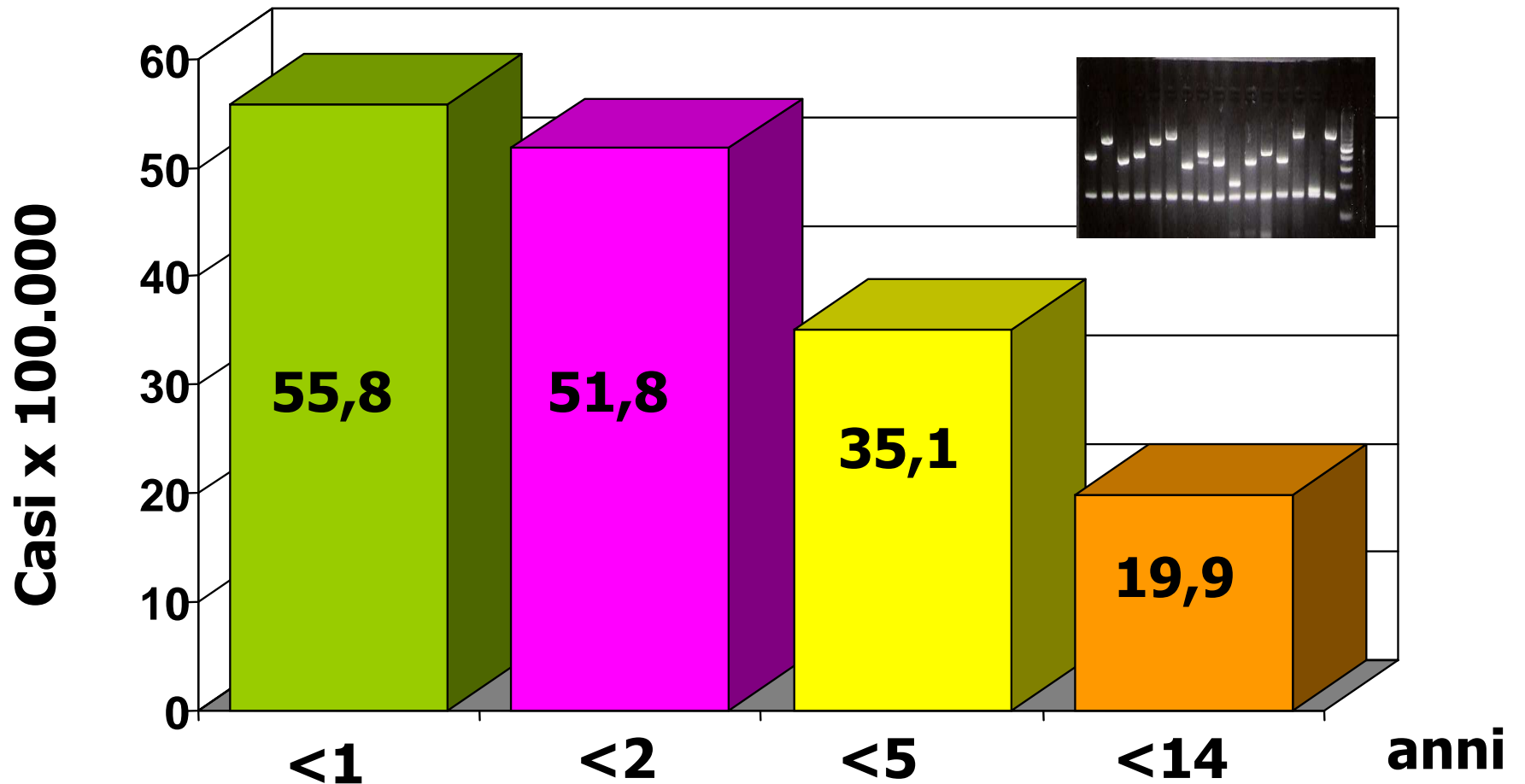
*D'Ancona F. Vaccine 2005
Italian PNC-Euro Working
group*

Azzari Resti 2007

Incidenza di IPD nella popolazione pediatrica fiorentina valutata mediante coltura

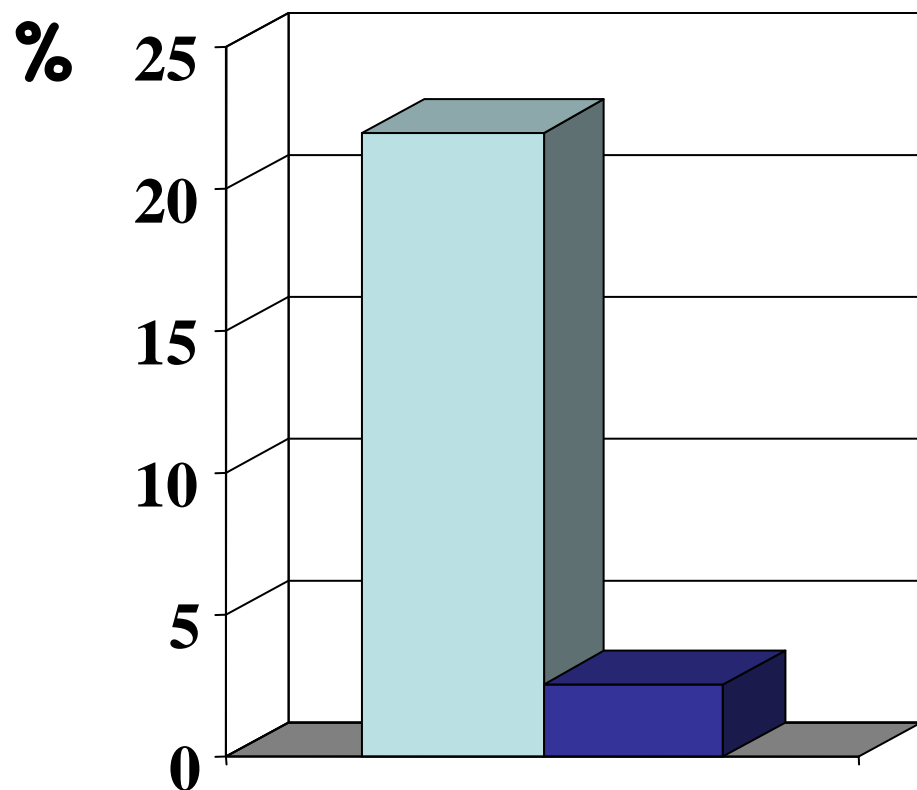


Incidenza di IPD nella popolazione pediatrica fiorentina valutata mediante PCR



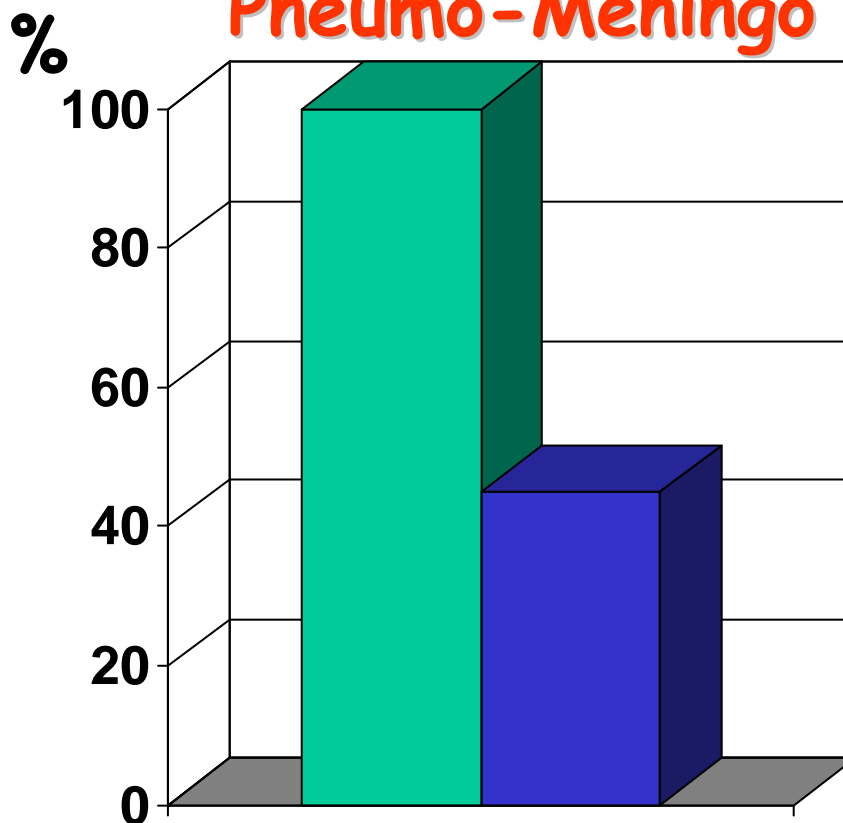
RT-PCR nella diagnosi di infezioni invasive da pneumococco

Broncopolmoniti n: 82



■ positivi RT-PCR n: 18
■ positivi Coltura n: 2

Meningiti / sepsi n: 11
Pneumo-Meningo



■ positivi RT-PCR n: 11
■ positivi Coltura n: 5



[OSPEDALE MEYER](#)

[UNIVERSITA](#)

[FONDAZIONE MEYER](#)

[NUOVO MEYER](#)

[FORMAZIONE MEYER](#)

[LAPRESADELLAPASTIGLIA](#)



Azienda Ospedaliero-Universitaria

[▶ INFO UTENTI](#)

[▶ COSA FACCIAMO](#)

[▶ CHI SIAMO](#)

[▶ INFO AZIENDALI](#)

[▶ DONAZIONI](#)



Servizio Sanitario della Toscana

[Home](#) > [Ospedale](#)

CERCA NELLA SEZIONE

Vai

Ospedale Pediatrico Meyer Azienda Ospedaliero-Universitaria

Non c'è emergenza sangue B+ per bimbo leucemico

Vi invitiamo a non chiamare l'ospedale Meyer per non intasare i centralini e consentire lo svolgersi delle regolari attività

Stop agli sms bufala!

Non c'è emergenza sangue B+! Non c'è emergenza sangue tipo B+ per bambino leucemico di 17 mesi. Si tratta di una catena di S. Antonio. Il Meyer chiede la collaborazione di tutti a bloccare questi sms bufala...

AREA RISERVATA

Login

Password

>>

[Registrali!](#) - [Recupera password](#)

Progetto Malattie Invasive

Gennaio 2007 - On line la sezione dedicata al progetto per monitorare le infezioni invasive. Scopri tutti i servizi...



Prevenzione dentale

On line l'elenco dei medici dentisti convenzionati per la prevenzione dentale gratuita >>>

Azienda Ospedaliero-Universitaria Meyer

Via Luca Giordano, 13
Viale Pieraccini, 24
50100 Firenze

P. IVA 02175680483



Real-Time PCR per PNEUMOCOCCO: primer per gene PLY (pneumolisina) conferma primer cps-A (PCR in gel di agarosio)

L'amplificazione di un prodotto significa presenza di DNA specifico
Si evidenzia come incremento di fluorescenza

Entità
di
fluorescenza



4 campioni



Cicli di amplificazione
nel tempo