

# corso pre-congressuale

## CORSO PRE-CONGRESSUALE A

### Introduzione alla scrittura scientifica: principi, tecniche e nuove tendenze

Martedì 2 Ottobre 2007, ore 13.30 - 17.30, SALA BLU

---

#### CPA.1

---

#### RUOLO E PROSPETTIVE DELLA EDITORIA NELL'AMCLI

**Piersimoni C.**

*Comitato per l'Editoria, Associazione Microbiologi Clinici Italiani (AMCLI) Milano*

L'attuale Servizio Sanitario Nazionale responsabile di una quota significativa dell'immenso debito pubblico del paese è gestito secondo logiche politico-sindacal-clientelari indifferenti se non francamente ostili alla meritocrazia professionale, non riconosce più alcun valore alle pubblicazioni scientifiche quale titolo per la progressione in carriera.

In tale contesto, non c'è da stupirsi se l'editoria delle Associazioni Scientifiche incontra crescenti difficoltà a reperire e pubblicare lavori scientifici di qualità. Oltre a ciò, la *globalizzazione* spinge i più ad orientarsi verso riviste scientifiche in lingua inglese le uniche che, tramite *internet*, garantiscono la più ampia diffusione.

Per chi non sa o non può pubblicare in inglese resta il piacere e l'orgoglio di lasciare una testimonianza della propria esistenza professionale, che si nobilita nella *epicrisi* fatta sul lavoro quotidiano senza lasciarselo mai scivolare addosso e che proprio per questo non diventa mai *routine*.

A tutti costoro, e non solo, si rivolge Microbiologia Medica la rivista ufficiale dell'AMCLI. Il Comitato per l'Editoria si è dato la *mission* di supportare chiunque desideri condividere con la nostra comunità scientifica le proprie esperienze professionali, aiutandolo ad acquisire quelle abilità metodologiche e formali indispensabili per la stesura di un lavoro scientifico.

Accanto a questo, sono state attivate modifiche atte a promuovere una progressiva internazionalizzazione della rivista. L'intento è quello di inserire

Microbiologia Medica in un canale internazionale puntando come obiettivo alla *quotazione* su PubMed.

Il Comitato per l'Editoria ha deciso di adottare un *indice strutturato* caratterizzato da: Rassegne o Linea-guida, Lavori originali, Note, Casi Clinici e Pagine Blu costituite, queste ultime, da rubriche varie di carattere non solo scientifico, ma anche storico, culturale e filosofico. E' indispensabile, inoltre, allargare la base di coloro i quali, all'interno della Associazione, forniscono un contributo attivo alla realizzazione della rivista. I Comitati ed i Gruppi di lavoro AMCLI sono stati invitati a designare un componente che entri a far parte, insieme al Direttore Scientifico AMCLI ed al Direttore Editoriale, del Comitato Scientifico di Microbiologia Medica cui spetterà definire le linee di politica editoriale in armonia con le direttive generali della Associazione.

Infine, ultimo ma non meno importante, spetta all'Esecutivo AMCLI supportare l'Editoria con risorse adeguate considerandola per quello che potenzialmente rappresenta: un punto di forza di tutta l'Associazione.

---

**CPA.3**

---

**RISORSE IN RETE PER LA BIOMEDICINA****Della Seta M.***Settore Documentazione ISS*

Nel corso dell'intervento si analizzeranno gli strumenti informativi per la biomedicina, messi a disposizione gratuitamente in rete dalla National Library of Medicine di Bethesda (Md., USA), di cui il più conosciuto è il PubMed.

Il sito della NLM [www.nlm.nih.gov](http://www.nlm.nih.gov) rappresenta uno strumento indispensabile per chi opera nel campo della ricerca scientifica e nel corso della lezione saranno analizzate alcune delle risorse disponibili.

In particolare si prenderanno in esame le potenzialità offerte da un archivio come Medline/Pubmed, che è in fase di evoluzione da base di dati bibliografici a sistema integrato con accesso alla letteratura a testo completo, tramite il collegamento al *PubMed Central*, repertorio di periodici ad accesso gratuito, e ai siti degli editori.

Saranno presentati esempi di ricerche sul PubMed, effettuate attraverso l'utilizzazione dei Medical Subject Headings, la cui traduzione è disponibile sul sito dell'Istituto Superiore di Sanità.

# corso pre-congressuale

## CORSO PRE-CONGRESSUALE B

### Qualità in parassitologia

Martedì 2 Ottobre 2007, ore 13.30 - 17.30, SALA BIANCA

---

#### CPB.2

---

#### IL CONTROLLO DI QUALITÀ INTERNO IN PARASSITOLOGIA

Di Matteo L.

La diagnostica parassitologica, soprattutto per i laboratori di base, si basa tuttora, nella maggior parte dei casi, sull'osservazione di preparati microscopici concentrati e/o colorati.

E' quindi quasi impossibile sottoporre a CQI l'aspetto forse più critico del processo cioè l'occhio del microscopista; questo aspetto esula dal campo del controllo interno ma rende molto importante il costante aggiornamento del personale e l'adesione a programmi ben condotti di VEQ.

Va rilevato che è impossibile instaurare un CQI di tipo statistico; i risultati sono espressi in misure qualitative o osservazioni. Non è sempre possibile inserire nelle serie analitiche controlli positivi e/o negativi.

Il CQI si realizza essenzialmente nel controllo degli apparecchi utilizzati, dei reagenti, nella corretta esecuzione delle tecniche e della refertazione.

Tra gli apparecchi utilizzati il **microscopio** è sicuramente il più importante, va correttamente utilizzato e sottoposto a pulizia e tarature periodiche; molto importante, per poter misurare le strutture che si osservano è l'utilizzo di un **oculare micrometrico**.

Anche la **centrifuga** utilizzata va fatta controllare almeno una volta all'anno (la forza e la durata della centrifugazione sono ad es. molto importanti per la corretta riuscita di una concentrazione delle feci con FEA).

Altri strumenti da sottoporre a controllo sono: termostato (controllo della temperatura), pH metro e cappa chimica.

I **coloranti** (soluzione di Dobell, Giemsa, alcool metilico etc.) rivestono una importanza primaria per un corretto risultato finale e l'utilizzo di controlli positivi

e negativi permette di verificarne l'efficienza oltre che di testare la corretta esecuzione della tecniche.

Infine il **referto** deve essere chiaro e conciso, deve esplicitare le ricerche effettuate ed in caso di positività riportare gli stadi vitali osservati.

# corso pre-congressuale

## CORSO PRE-CONGRESSUALE C

### Evoluzione delle tecniche diagnostiche in Microbiologia

Martedì 2 Ottobre 2007, ore 13.30 - 17.30, AUDITORIUM

---

#### CPC.2

---

#### ATTUALITÀ E PROSPETTIVE DEI METODI CULTURALI

**Camaggi A., Panecaldo I.**

*S.C.D.O. Laboratorio di Microbiologia e Virologia, Ospedale Maggiore della Carità di Novara*

Dalla struttura del DNA, all'ingegneria genetica si è prodotto un tale profondo cambiamento nell'organizzazione del lavoro scientifico che lo stesso J. D. Watson ha scritto: ***“Se qualcuno avesse pronosticato che l'intero genoma umano sarebbe stato sequenziato di lì a cinquant'anni, Crick ed io avremmo riso e gli avremmo offerto un altro bicchiere”.***

Siamo, oggi, in una nuova era, che sembrava sino a ieri inimmaginabile; la medicina sta andando verso una visione di tipo predittivo e preventivo.

Le nuove tecnologie presentano vantaggi molteplici nei confronti delle metodiche tradizionali: sensibilità, specificità, rapidità di esecuzione.

Tutto questo si traduce nella fine dei metodi culturali “tradizionali”? Sicuramente no!

I metodi culturali, affiancati sempre più, dai metodi di biologia molecolare, attualmente, rappresentano ancora il “gold standard” in molte ricerche.

I metodi culturali, hanno anch'essi conosciuto un'evoluzione non indifferente, alcuni esempi: i terreni cromogenici che permettono di riconoscere il microrganismo dal colore assunto dalle colonie durante la crescita, oppure i terreni liquidi per la ricerca dei micobatteri che hanno ridotto notevolmente i tempi di crescita in coltura, di questi ultimi. I microrganismi si modificano per adattarsi ai cambiamenti ambientali e l'isolamento dell'agente patogeno in coltura, rimane un punto cardine della batteriologia clinica poiché consente di lavorare direttamente su di esso e quindi di verificarne le caratteristiche di specie, di sensibilità e

quant'altro. Questo ci consente di studiarne l'epidemiologia, di verificarne nel tempo le eventuali variazioni di sensibilità agli antibiotici impiegati in terapia, di rilevare situazioni di sinergismo o di antagonismo tra farmaci. Inoltre rilevare l'acido nucleico di un patogeno non significa necessariamente che quel patogeno si stia moltiplicando nel soggetto in esame (in corso di terapia, è infatti possibile che il frammento che noi amplifichiamo sia in realtà parte di agenti patogeni non più vitali), oppure quello che noi rileviamo può essere un colonizzatore più che un responsabile di infezione invasiva. Il difficile compito del microbiologo di correlare la presenza del batterio, e/o il numero di unità formanti colonie (ufc/mL), con il quadro clinico del paziente rimane ancora saldamente legato all'utilizzo dell'“ansa”.

**CPC.3****EVOLUZIONE DELLE TECNICHE DI AMPLIFICAZIONE****Garlaschi M.C., Gava G.**

Laboratorio Centrale di Analisi Chimico Cliniche e Microbiologia. Fondazione IRCCS Ospedale Maggiore Policlinico Mangiagalli e Regina Elena

Le tecniche di Biologia Molecolare sono oggi utilizzate oltre che per la diagnosi e per la tipizzazione batterica, anche per la evidenziazione delle resistenze.

I vantaggi che derivano dall'utilizzo di tale metodica sono molti, infatti la rapidità di risposta in molti casi è veramente utile per la diagnosi, soprattutto per quei microrganismi che sono difficilmente coltivabili o a lenta crescita; non dimentichiamo inoltre l'elevata specificità e sensibilità di questa tecnica. Esistono purtroppo ancora delle ombre pensiamo per esempio al costo elevato dei reagenti, agli spazi dedicati e al personale specializzato e di conseguenza al rapporto costo/beneficio.

Le tecniche a tutt'oggi esistenti sono utilizzate:

- per identificare il patogeno direttamente nei materiali biologici
- per identificare geni di resistenza
- per identificare i microrganismi da coltura (ribotipizzazione, sequenziamento)
- per tipizzare i microrganismi.

I kits più commercializzati sono quelli che mettono in evidenza due patogeni responsabili di malattie sessualmente trasmesse: *Chlamydia trachomatis* e *Neisseria gonorrhoeae*. Recentemente si sono rese disponibili metodiche molecolari per tre patogeni delle vie respiratorie: *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae* e *legionella pneumophila*.

La ricerca di tali microrganismi, che era possibile fino a pochi anni fa solamente con metodi di PCR o Nested PCR (doppia amplificazione), ora può essere effettuata mediante metodi in Real time PCR. Questa tecnologia permette di quantizzare il microrganismo in tempo reale e di conseguenza darà un valido contributo al monitoraggio della terapia antibiotica.

Il prossimo futuro sarà quello di ricercare i patogeni responsabili di infezione presenti nel materiale in esame. La strategia potrebbe essere quella di utilizzare primers universali 16S rRNA, amplificare e identificare mediante sequenziamento l'amplificato. Le ombre sono ancora molte, ma soltanto l'utilizzo, di tali tecniche, con le problematiche che ne conseguono e gli sforzi congiunti per superarle, ci permetteranno di sfruttarne pienamente i vantaggi.

**CPC.4****LE METODICHE DI SEQUENZIAMENTO: APPLICAZIONE IN MICROBIOLOGIA CLINICA****Crovatto M.**

Struttura Semplice Dipartimentale di Biologia Molecolare - Dipartimento di Medicina di Laboratorio Azienda Ospedaliera Santa Maria degli Angeli, Pordenone

Il sequenziamento del DNA ha rappresentato una delle tappe fondamentali per lo studio dei processi biologici e delle biodiversità. In campo microbiologico si è rivelato estremamente importante per individuare nuovi patogeni, migliorare la diagnostica delle malattie infettive note, individuare e capire le interrelazioni tra le comunità microbiche che vivono nel corpo umano e sulla sua superficie, valutare in maniera più accurata ed approfondita l'epidemiologia delle malattie infettive.

La messa a punto di sistemi rapidi (cycle sequencing, pyrosequencing, sequenziamento basato sull'elettroforesi capillare, Open Gene System) applicabili su vasta scala ha sensibilmente accelerato l'applicazione del sequenziamento nella routine di un laboratorio di microbiologia, basti pensare ad esempio alla genotipizzazione di HCV e di HBV ed al rilevamento delle resistenze di HBV e HIV ai farmaci antivirali, già ampiamente diffusi in molti laboratori ed essenziali per la gestione della terapia. L'identificazione di microrganismi sulla base della sequenza, applicabile già ora in diverse situazioni, costituisce un'ulteriore mezzo che nell'immediato futuro potrebbe trovare applicazione soprattutto per i microrganismi di difficile coltivazione o a crescita molto lenta. Sulla base delle seguenti premesse ci si propone di:

- fare un'analisi critica delle metodiche di sequenziamento disponibili e delle varie possibilità di applicazione nella microbiologia clinica
- fare un excursus sulle nuove metodologie di sequenziamento (es. nanopore sequencing) e delle relative potenzialità
- illustrare alcune esperienze personali di sequenziamento per la genotipizzazione di HCV e di HBV ed il rilevamento delle resistenze di HBV
- discutere in maniera interattiva i dati e le problematiche relative alle metodologie