

VALUTAZIONE PRELIMINARE BCID PANEL FILMARRAY(R) NELLA DIAGNOSI DELLA MENINGITE BATTERICA

A. Altieri², M.C. Bossa², S. Minelli², C. Favalli³, C. Fontana¹

¹Lab Microbiologia, Policlinico Tor Vergata - V.le Oxford 81, 00133 Roma. Dip Med. Sper. e Chirurgia - Università Tor Vergata - Via Montpellier 1, 00133 Roma

²Lab Microbiologia, Policlinico Tor Vergata - V.le Oxford 81, 00133 Roma

³Lab Microbiologia, Policlinico Tor Vergata - V.le Oxford 81, 00133 Roma. Dip Med. Sper. e Chirurgia - Università Tor Vergata - Via Montpellier 1, 00133 Roma

INTRODUZIONE

La meningite è da sempre considerata un'emergenza medica, a causa delle elevate mortalità e morbidità attribuitegli. Per un'adeguata diagnosi, accanto alle tradizionali tecniche colturali (notoriamente gravate da scarsa sensibilità e dai lunghi tempi), sono state sviluppate negli ultimi anni diverse tecniche di diagnosi molecolare eseguibili direttamente su liquor (CSF). Uno degli strumenti di ultima generazione è il filmArray® (bioMérieux) (FA). Il sistema si basa sul principio di una multiplex nested PCR con identificazione finale degli ampliconi mediante curva di melting. Il sistema è stato introdotto con il BCID panel, ossia con il kit disegnato per l'identificazione da emocoltura di 24 patogeni, fra questi sono presenti quelli implicati più comunemente nella meningite batterica. Scopo di questo lavoro è quello di presentare la nostra esperienza nell'utilizzo del FA con il BCID panel nella sua applicazione su campioni di liquor al fine di colmare i gaps diagnostici della coltura e di ridurre i tempi di refertazione.

METODI

Lo studio è stato condotto su 225 campioni CSF pervenuti al laboratorio di microbiologia del Policlinico Tor Vergata da agosto 2014 ad agosto 2015. I campioni, destinati al FA-BCID, sono stati selezionati sulla base del batterioscopico, ossia su tutti i campioni con batterioscopico positivo che pur mostrando un evidente aumento dei leucociti, erano negativi alla ricerca degli esoantigeni batterici e/o al microscopico diretto. In totale sono stati valutati 11 CSF. Su tutti i campioni si è proceduto con l'esecuzione del microarray mediante l'utilizzo del BCID panel del sistema filmArray®. La coltura è stata effettuata secondo le procedure standard post centrifugazione del CSF e con semina su: Columbia CNA (in anaerobiosi e microaerofilia), Agar Cioccolato (incubato in microaerofilia), MacConkey agar, PALCAM, Saboraud Destrosio agar. Le piastre incubate a 37 °C sono state mantenute in osservazione per 5 gg. Su ogni campione di CSF tal quale si è proceduto, inoltre, all'arricchimento mediante utilizzo del sistema ALFRED (Alifax) inoculando le vials HB&L screening (Alifax) con 500 µl di CSF.

RISULTATI

Degli 11 campioni analizzati, 7 sono risultati negativi sia al BCID sia alla coltura; 4 sono risultati positivi, 1 per *S. pyogenes*, 2 per *K. pneumoniae*, ed 1 per *S. pneumoniae*. Tuttavia solo 4 dei 5 positivi sono stati confermati con la coltura. Da osservare che per *S. pyogenes*, (debolmente positivo al batterioscopico) la coltura si è positivizzata dopo 48 ore di incubazione. Un CSF, negativo al BCID panel, ma positivo alla coltura per *L. monocytogenes* (post prearricchimento nel sistema ALFRED), era stato tuttavia processato con una quantità insufficiente (<300 µl), a causa del volume esiguo di CSF pervenuto.

CONCLUSIONI

L'introduzione di una tecnica di PCR rapida e nello stesso tempo di facile esecuzione permette una diagnosi tempestiva, utile sia per una precoce profilassi che per una terapia adeguata. Da rilevare, secondo la nostra esperienza, l'importanza, nell'approccio a questo sistema, di poter disporre di un corretto volume di campione per evitare falsi negativi.