

UTILIZZO DI UNA NUOVA TECNICA MOLECOLARE (CAPSULAR SEQUENCE TYPING) PER LA SIEROTIPIZZAZIONE DI STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE.

G. Errico¹, C. Lucarelli¹, F. D'ambrosio¹, M. Del Grosso¹, L. Ingrosso¹, R. Camilli¹, A. Pantosti¹

¹Dipartimento di Malattie Infettive Parassitarie ed Immunomediate, Istituto Superiore di Sanità, Roma

INTRODUZIONE

Streptococcus pneumoniae è un patogeno umano di grande rilevanza, di cui sono conosciuti più di 90 sierotipi. La conoscenza dei sierotipi circolanti è importante per valutare l'impatto dei vaccini pneumococcici in uso e dei vaccini futuri. Con questo studio abbiamo testato un nuovo metodo, il "Capsular Sequence Typing" (CST), per la sierotipizzazione sia di ceppi contemporanei che di ceppi non vitali, risalenti agli anni '80.

METODI

Il CST è basato sul sequenziamento di un frammento del gene capsulare conservato wzh, e sul confronto della sequenza con un database disponibile su web che assegna automaticamente il Capsular Type (CT). Il CST è stato applicato a 65 ceppi invasivi provenienti dalla sorveglianza nazionale che comprendevano i sierotipi attualmente circolanti in Italia e che erano stati precedentemente sierotipizzati mediante la tecnica del rigonfiamento capsulare (Quellung), che è considerata il gold standard. Il CST è stato inoltre applicato al DNA estratto da 132 ceppi liofilizzati non vitali risalenti agli anni '80. Per i casi in cui il CST non ha indicato un sierotipo univoco è stata effettuata una PCR sierotipo-specifica.

RISULTATI

Il CST ha fornito un sierotipo univoco e concordante con quello ottenuto mediante Quellung per il 52.3% dei ceppi invasivi; per la restante parte, eccetto 3 casi, ha indicato un gruppo di sierotipi comprendente quello ottenuto con la Quellung. Dei 132 ceppi liofilizzati non vitali sottoposti allo studio, 4 risultavano negativi all'amplificazione del gene wzh. Per i rimanenti 128, nel 59.4% dei casi CST ha fornito un sierotipo univoco, nel 39% sono stati forniti sierogruppi/ sierotipi multipli e nel 1.6% i ceppi mostravano nuove sequenze (non tipizzabili). Per tutti i casi per i quali sono stati ottenuti sierotipi multipli/sierogruppi è stata effettuata una PCR sierotipo-specifica ottenendo un sierotipo univoco in circa la metà dei casi. In totale tra i ceppi degli anni '80' sono stati identificati 21 sierotipi univoci e 13 sierotipi multipli/ sierogruppi, tra cui i più frequenti sono 3 (15.6%), 14 (11.7%), 35B (5.5%), 19A (4.7%) e 8 (4.7%).

CONCLUSIONI

Il nuovo metodo CST, sviluppato nell'ambito della sorveglianza europea delle malattie batteriche invasive, presenta il vantaggio di riuscire a sierotipizzare *S. pneumoniae* (anche ceppi non vitali) con costi contenuti e con maggiore rapidità rispetto ad altre tecniche molecolari. Tuttavia condivide con queste ultime lo svantaggio di non riuscire a discriminare tutti i sierotipi e di fornire spesso tipizzazioni parziali anche se combinato con altre metodiche molecolari. Questo studio conferma che ad oggi il gold standard per la sierotipizzazione di ceppi vitali di *S. pneumoniae* rimane la reazione di Quellung perchè, a fronte del costo e della necessità di esperienza tecnica, consente di riconoscere tutti i sierotipi e di seguire con precisione l'evoluzione dei sierotipi circolanti.