GRANDE OSPEDALE METROPOLITANO
BIANCHI MELACRINO MORELLI
REGGIO CALABRIA

AMCLI associazione microbiologi clinici italiani
Ente del Terzo Settore

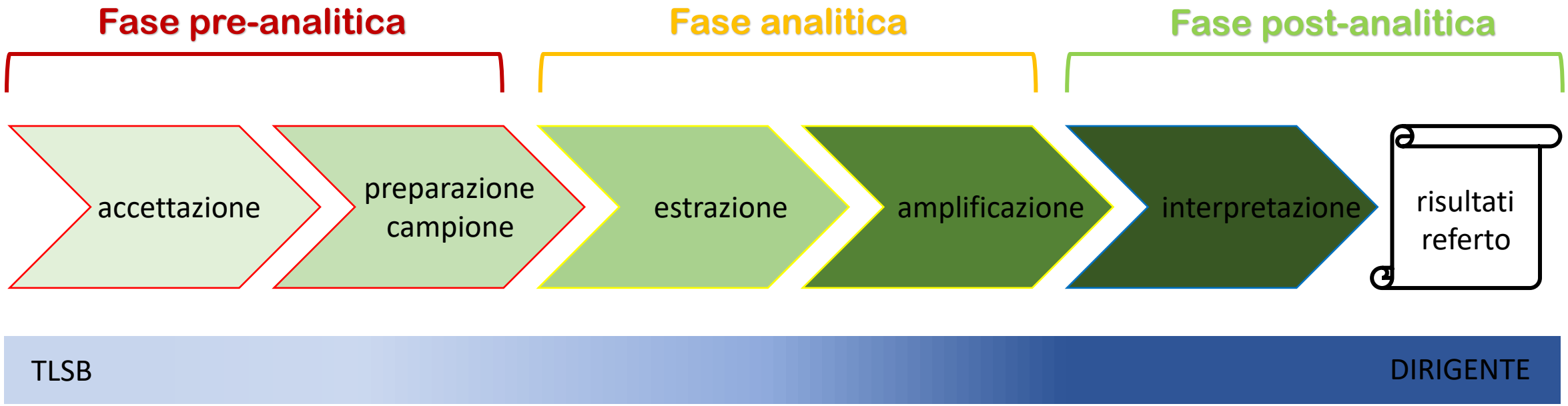
Pannelli sindromici: esperienza del GOM di Reggio Calabria

dr. Francesco D'Aleo – dr. Carmelo Papola

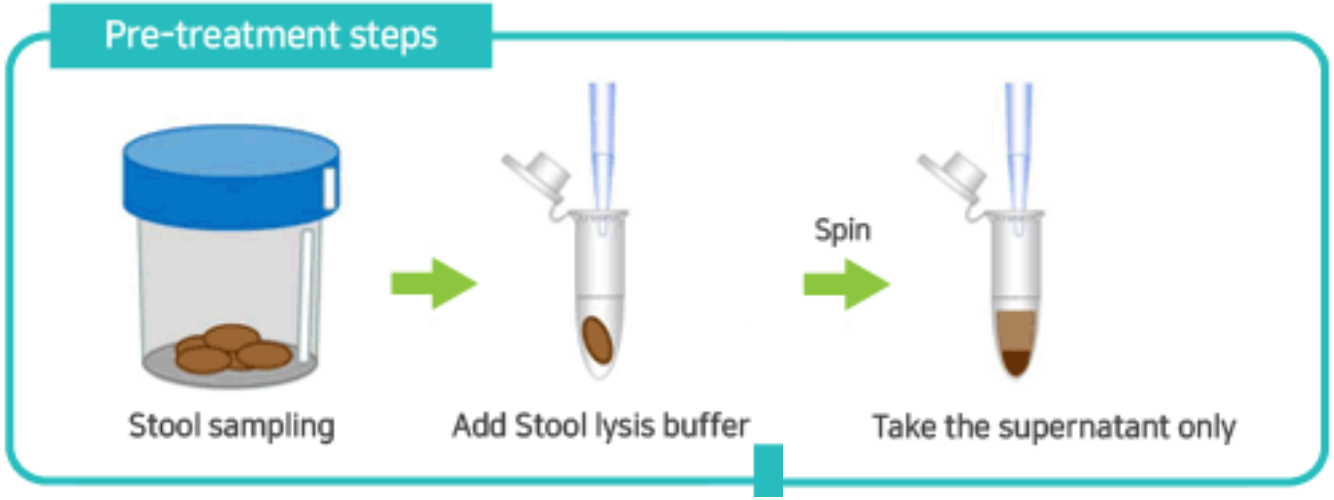
francesco.daleo@ospedalerc.it
https://www.researchgate.net/profile/Francesco-Daleo-4

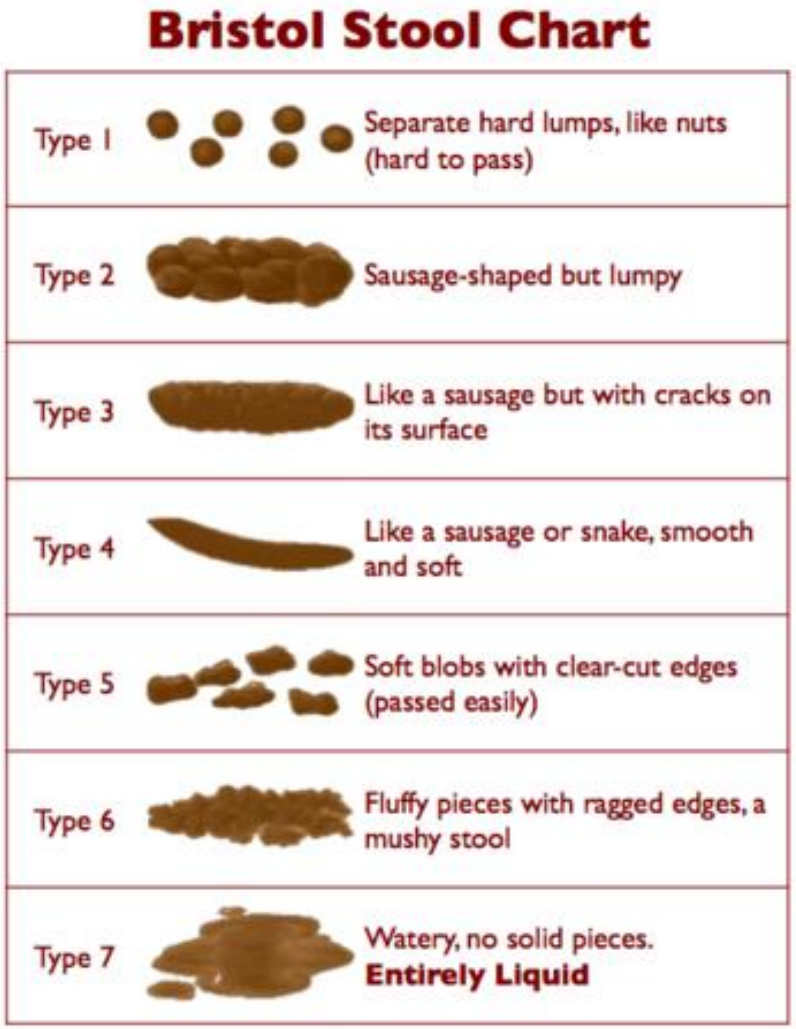
CATANZARO, 12 APRILE 2024

Gestione flusso di Lavoro



Fase pre-analitica



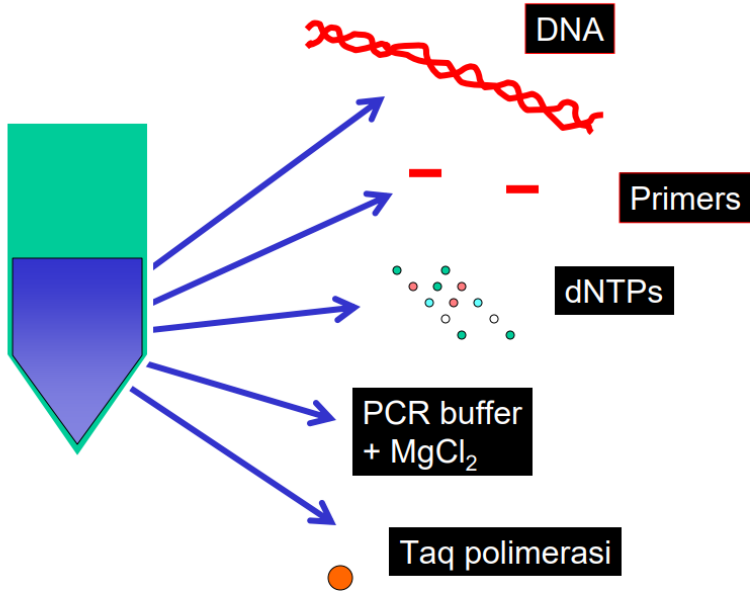


I campioni vengono attentamente valutati e scartati quelli corrispondenti al tipo 1/2/3 di **Bristol**.
I campioni idonei sono stoccati a -20°C e processati ogni **3 giorni**.

Fase analitica

PCR

La **finalità** principale di questa metodologia è quella di **amplificare l'acido nucleico**, cioè replicarlo in serie in modo da aumentare in maniera esponenziale la quantità di molecole presente nel campione.

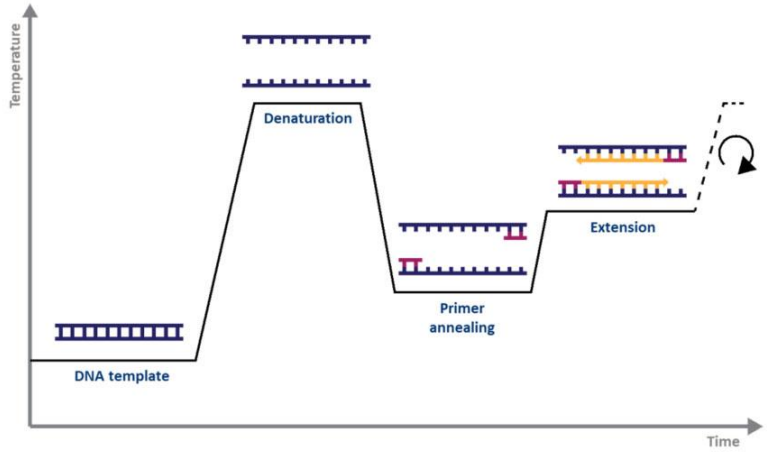


Tre passaggi amplificati per 30 o 40 cicli:

denaturazione a 95°C, 30 sec. - 1 min.

annealing a 54-60°C, 30 sec. - 50 sec.

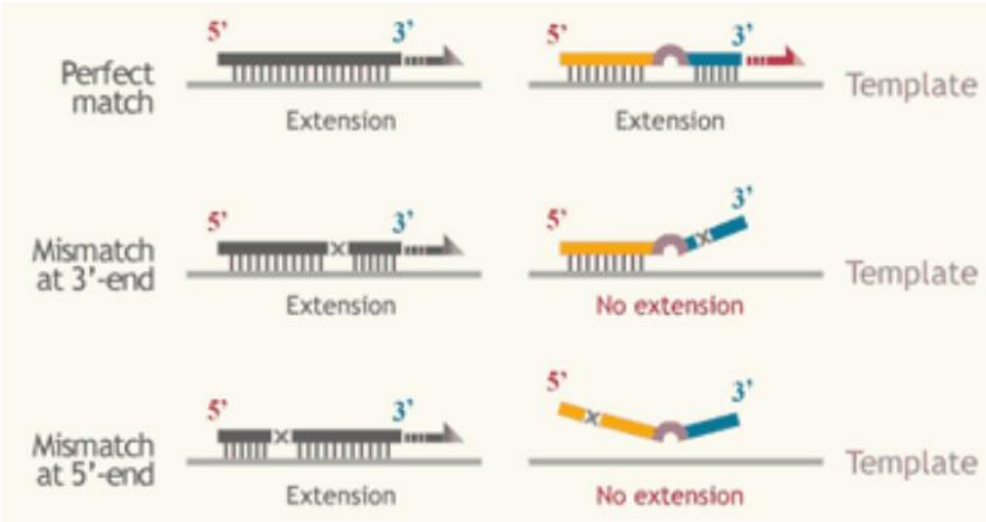
estensione a 72°C, 1-2 min.

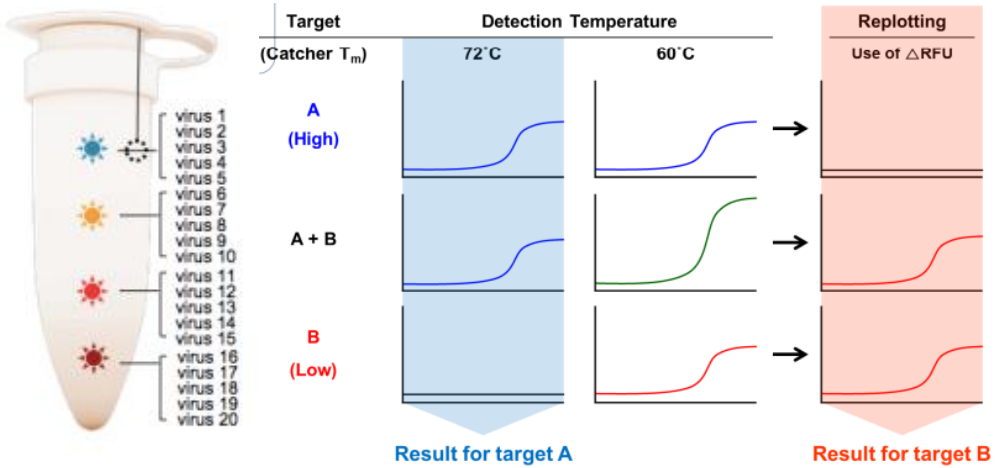


Fase analitica

PCR MULTIPLEX

La rivelazione del prodotto di PCR avviene in **tempo reale**. La **quantificazione** di DNA, cDNA o RNA ha luogo determinando il ciclo al quale il prodotto di PCR può essere rivelato per la prima volta. La quantificazione del prodotto avviene attraverso la fluorescenza misurata per ogni ciclo di PCR. La quantità di fluorescenza di fluorescenza è direttamente proporzionale alla quantità di prodotto amplificato.

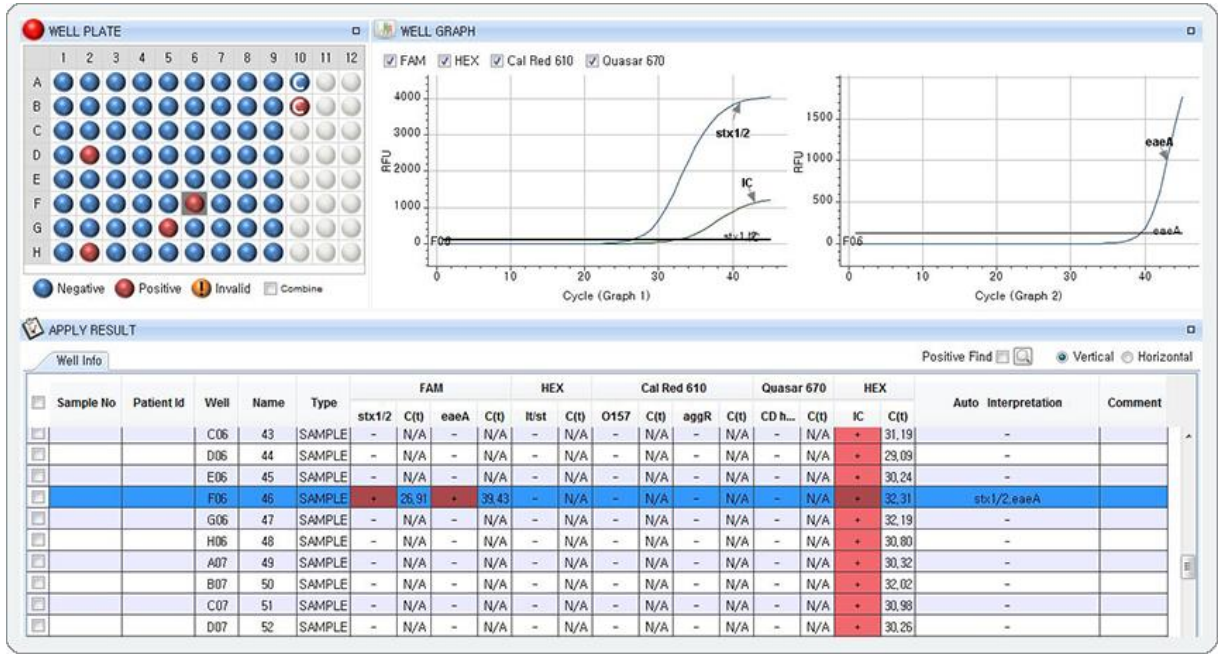




Nuove tecnologie implementate

- **Primer DPO**
- **TOCE**
- **MUDT**

Fase post-analitica



Sample No	Patient Id	Well	Name	Type	FAM stx1/2	FAM C(t)	FAM eaeA	FAM C(t)	HEX lt/st	HEX C(t)	Cal Red 610 O157	Cal Red 610 C(t)	Cal Red 610 aggR	Cal Red 610 C(t)	Quasar 670 CD h...	Quasar 670 C(t)	HEX IC	HEX C(t)	Auto Interpretation	Comment
		C06	43	SAMPLE	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	+	31,19	-	
		D06	44	SAMPLE	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	+	29,09	-	
		E06	45	SAMPLE	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	+	30,24	-	
		F06	46	SAMPLE	+	26,91	+	39,43	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	+	32,31	stx1/2,eaeA	
		G06	47	SAMPLE	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	+	32,19	-	
		H06	48	SAMPLE	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	+	30,80	-	
		A07	49	SAMPLE	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	+	30,32	-	
		B07	50	SAMPLE	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	+	32,02	-	
		C07	51	SAMPLE	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	+	30,98	-	
		D07	52	SAMPLE	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	-	N/A	+	30,26	-	

interpretazione del risultato:

- curve
- ct
- target rilevati

referto

dr. Francesco D'Aleo – dr. Carmelo Papola

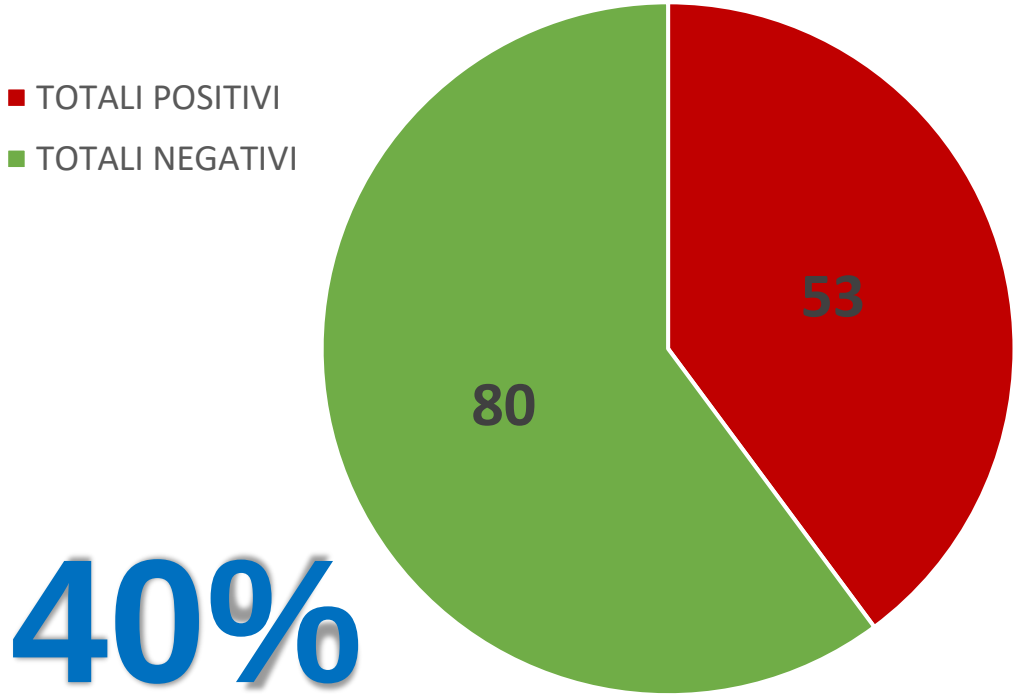
Nel 2022 sono stati processati 133 campioni:

53 positivi

CAMPYLOBACTER SPP.	7
CLOSTRIDIUM DIFFICILE TOXIN B	7
SALMONELLA SPP	8
SHIGELLA SPP.	0
VIBRIO SPP.	0
YERSINIA ENTEROCOLITICA	0
AEROMONAS SPP.	2
CLOSTRIDIUM DIFFICILE HYPEVIRULENT	0
E.COLI 157	0
E. COLI ENTEROEMORRAGICO	0
E. COLI ENTEROPATOGENICO	12
E.COLI ENTEROTOSSINOGENICO	0
E.COLI ENTEROAGGREGANTE	1

GIARDIA LAMBLIA	1
ENTAMOEBA HISTOLYTICA	0
CRYPTOSPORIDIUM SPP.	0
BLASTOCYSTIS HOMINIS	2
DIENTAMOEBA FRAGILIS	3
CYCLOSPORA CAYETANENSIS	0

NOROVIRUS	5
ROTAVIRUS	2
ADENOVIRUS	13
ASTROVIRUS	2
SAPOVIRUS	0



40%

CATANZARO, 12 APRILE 2024

dr. Francesco D'Aleo – dr. Carmelo Papola

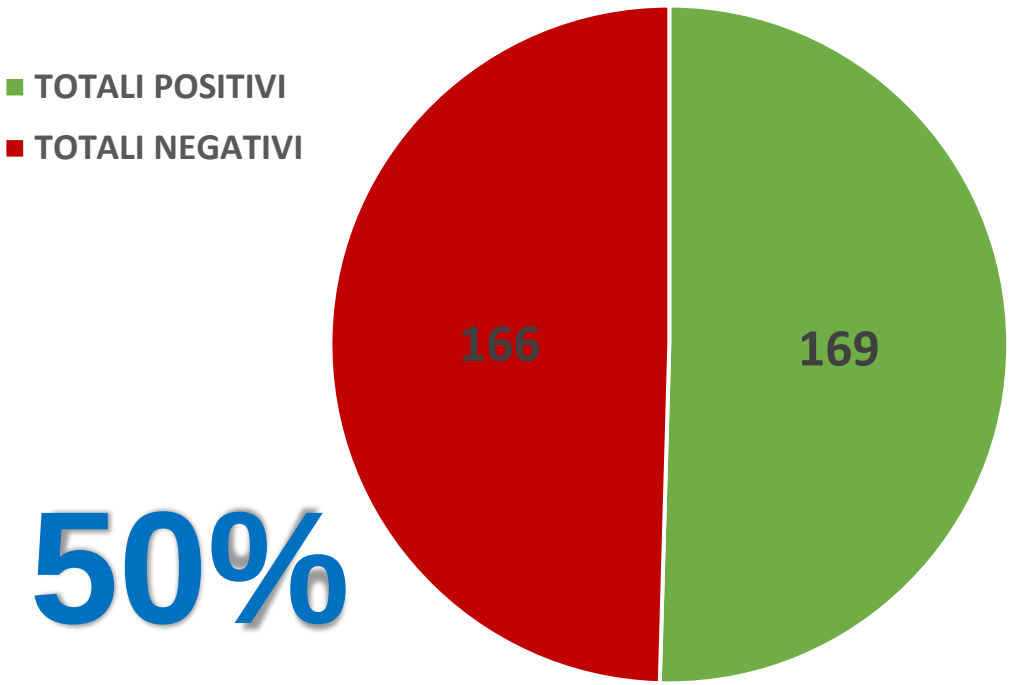
Nel 2023 sono stati processati 335 campioni:

166 positivi

NOROVIRUS	38
ROTAVIRUS	34
ASTROVIRUS	25
SAPOVIRUS	13
ADENOVIRUS	6

GIARDIA LAMBLIA	3
ENTAMOEBA HISTOLYTICA	0
CRYPTOSPORIDIUM SPP.	2
BLASTOCYSTIS HOMINIS	19
DIENTAMOEBA FRAGILIS	8
CYCLOSPORA CAYETANENSIS	0

CAMPYLOBACTER SPP.	18
CLOSTRIDIUM DIFFICILE TOXIN B	41
SALMONELLA SPP	5
SHIGELLA SPP.	0
VIBRIO SPP.	0
YERSINIA ENTEROCOLITICA	1
AEROMONAS SPP.	5
CLOSTRIDIUM DIFFICILE HYPEVIRULENT	9
E.COLI 157	0
E. COLI ENTEROEMORRAGICO	0
E. COLI ENTEROPATOGENICO	8
E.COLI ENTEROTOSSINOGENICO	3
E.COLI ENTEROAGGREGANTE	16



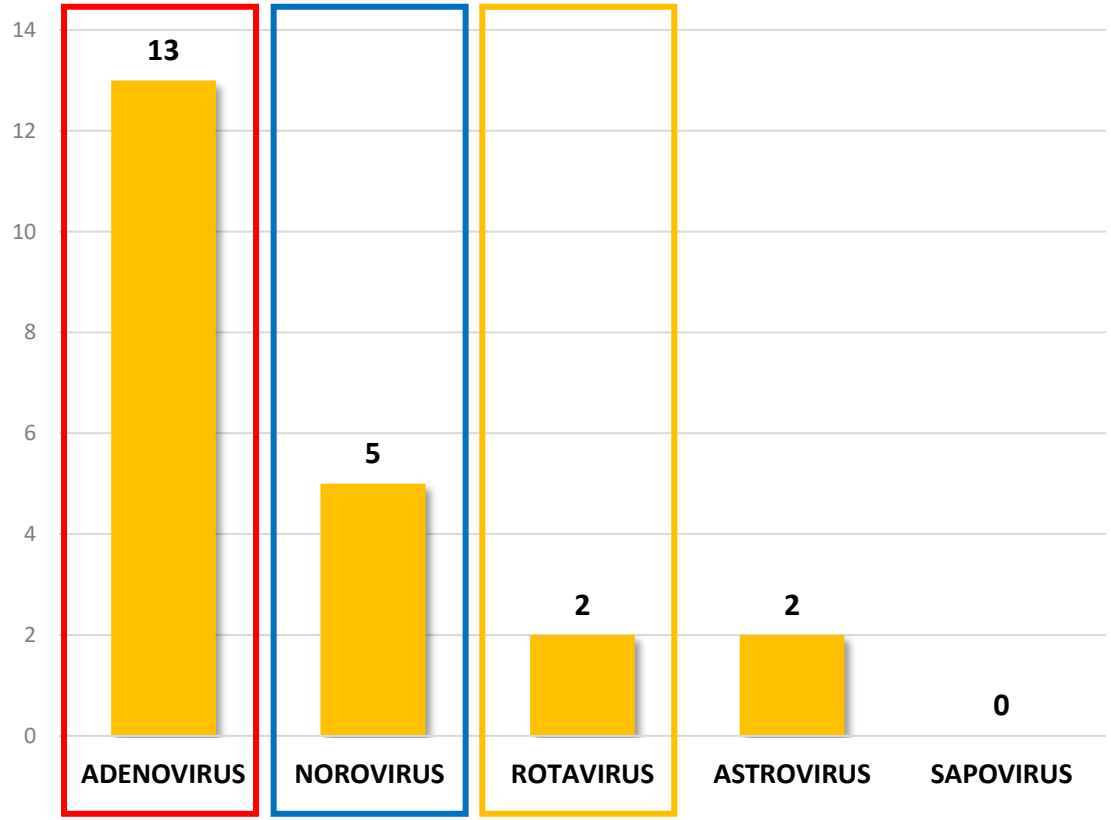
50%

CATANZARO, 12 APRILE 2024

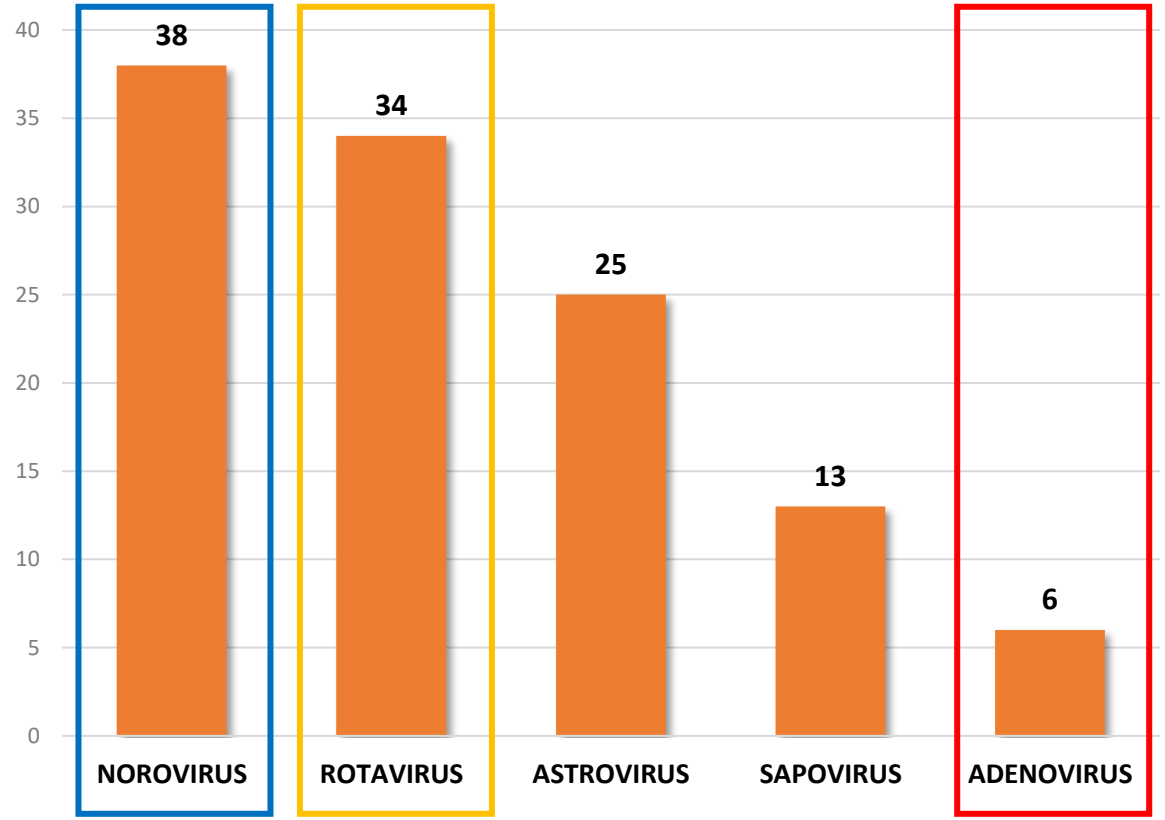
Pannelli sindromici: esperienza del GOM di Reggio Calabria

dr. Francesco D'Aleo – dr. Carmelo Papola

2022



2023



CATANZARO, 12 APRILE 2024

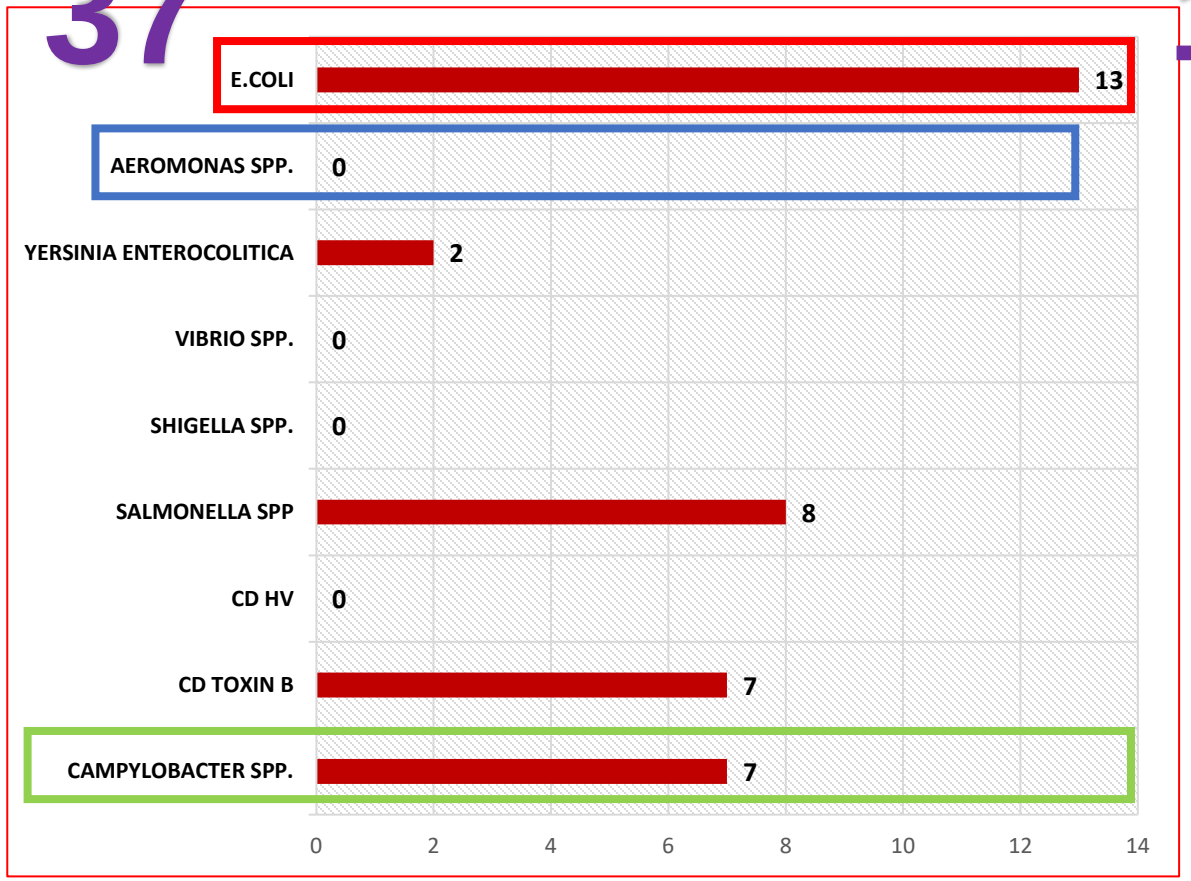
dr. Francesco D'Aleo – dr. Carmelo Papola

Pannelli sindromici: esperienza del GOM di Reggio Calabria

dr. Francesco D'Aleo – dr. Carmelo Papola

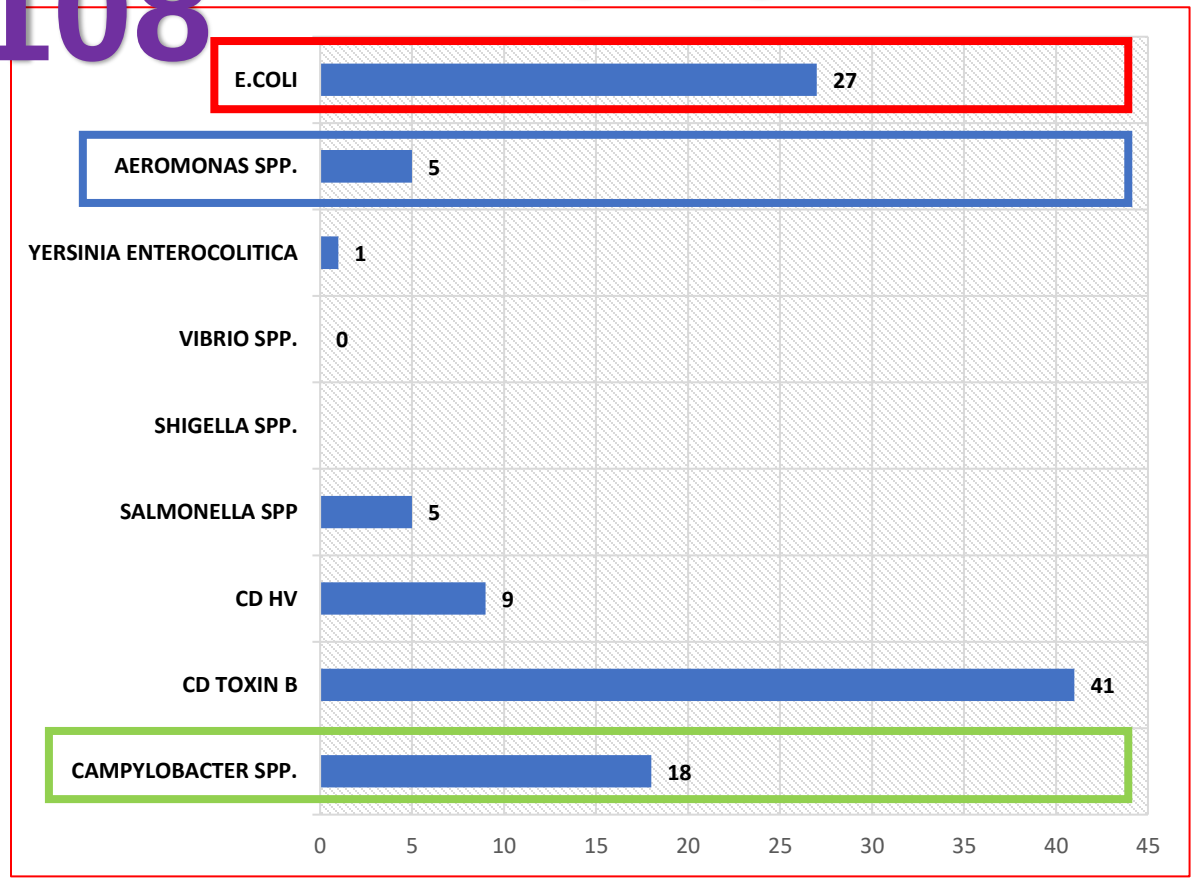
2022

37



2023

108



CATANZARO, 12 APRILE 2024

Pannelli sindromici: esperienza del GOM di Reggio Calabria

dr. Francesco D'Aleo – dr. Carmelo Papola

European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases (2020) 39:1245–1250
https://doi.org/10.1007/s10096-020-03837-4

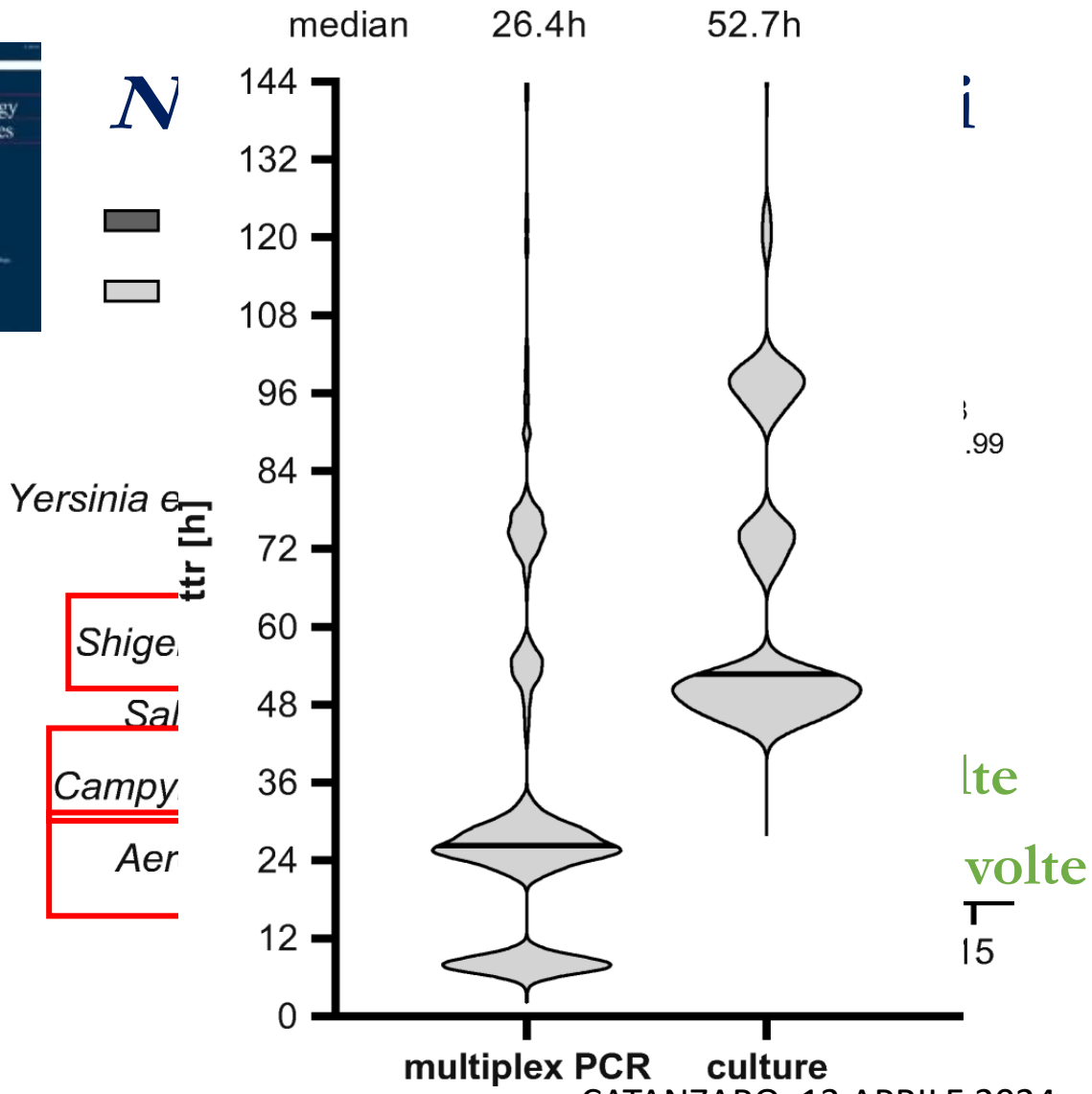
ORIGINAL ARTICLE

Workflow optimization for syndromic diarrhea diagnosis using the molecular Seegene Allplex™ GI-Bacteria(I) assay

Stefan Zimmermann[1] · Susanne Horner[1] · Martin Altwegg[2] · Alexander H. Dalpke[1,3]

plus

La **sensibilità** del test è stata del **100%** per *Campylobacter* spp., **92%** per *Salmonella* spp. e **89%** per *Aeromonas* spp.



La no esper

European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases
https://doi.org/10.1007/s10096-024-04803-0

ORIGINAL ARTICLE

Human *Campylobacter* spp. infections in Italy

Verena Zerbato[1] · Stefano Di Bella[2] · Riccardo Pol[1] · Roberto Luzzati[2] · Gianfranco Sanson[2] · Simone Ambretti[3,4] · Stefano Andreoni[5] · Richard Aschbacher[6] · Mariano Bernardo[7] · Alessandra Bielli[8] · Gioconda Brigante[9] · Marina Busetti[10] · Giulio Camarlinghi[11] · Davide Carcione[9] · Antonella Carducci[9] · Nicola Clementi[12,13] · Edoardo Carretto[14] · Chiara Chilleri[15,16] · Giulia Codda[17] · Alessandra Consonni[18] · Venera Costantino[10] · Venere Cortazzo[19,20] · Manuela Di Santolo[10] · Saveria Dodaro[21] · Barbara Fiori[22] · Aurora García-Fernández[23] · Claudio Foschi[3,4] · Elisa Gobbato[5] · Francesca Greco[21] · Roberto Marcello La Ragione[24,25] · Nicasio Mancini[26,27] · Alberto Enrico Maraolo[28] · Anna Marchese[17,29] · Daniela Marcuccio[30] · Roberta Marrollo[14] · Carola Mauri[18] · Annarita Mazzariol[31] · Gianluca Morroni[32] · Adriana Mosca[33] · Giacomo Nigrisoli[3] · Elisabetta Pagani[6] · Eva Maria Parisio[11] · Simona Pollini[15,16] · Mario Sarti[34] · Annarita Sorrentino[31] · Domenico Trotta[32] · Laura Villa[23] · Chiara Vismara[8] · Luigi Principe[30]

Received: 10 December 2023 / Accepted: 7 March 2024
© The Author(s), under exclusive licence to Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2024

E. COLI

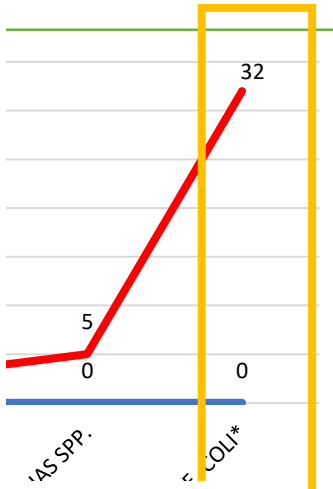
AEROMONAS SPP

YERSINIA ENTEROCOLITICA

SHIGELLA SPP

SALMONELLA SP

32%

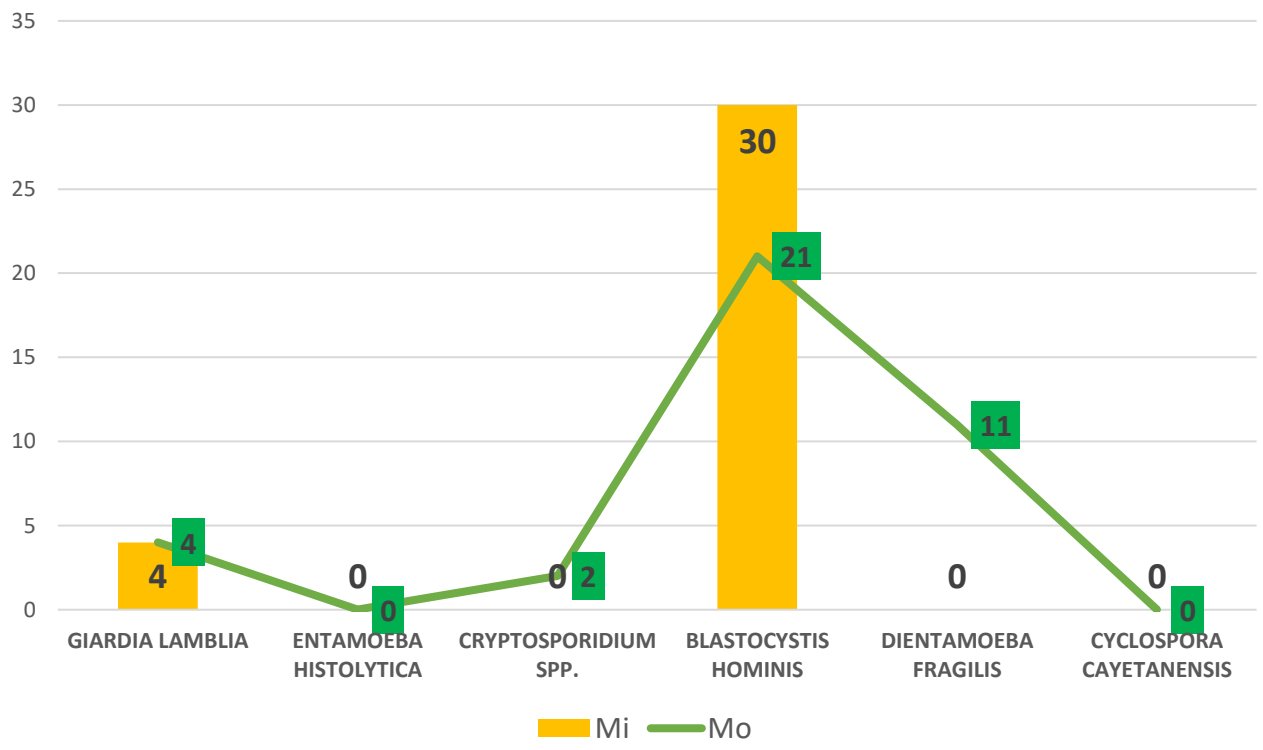


È stata valutata la sensibilità antimicrobica in 4.627 isolati (85,4%). La **resistenza** alla **ciprofloxacina** e alle **tetracicline** è stata rispettivamente del **75,5%** e del **54,8%**; la resistenza all'eritromicina era del 4,8%; claritromicina 2% e azitromicina 2%. Il 50% di *C. jejuni* e *C. coli* erano resistenti a ≥ 2 antibiotici.

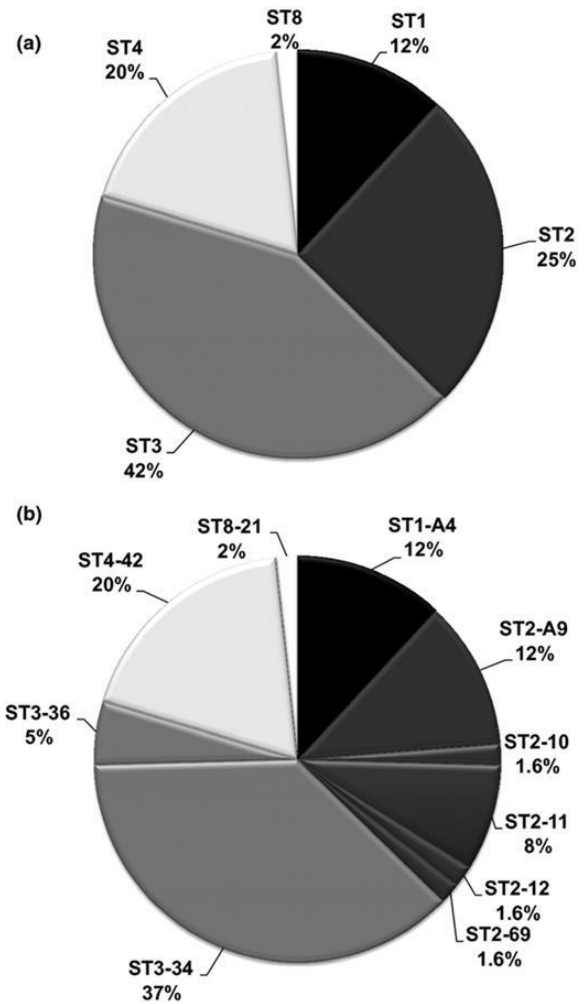
dr. Francesco D'Aleo – dr. Carmelo Papola

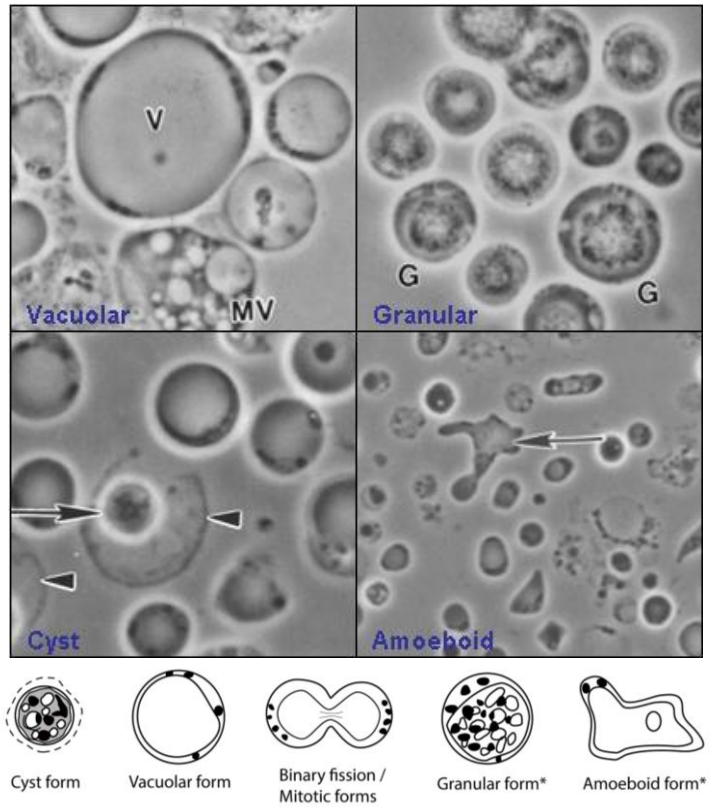
Risultati di rilevazione dei protozoi

	Mi	Mo
Giardia lamblia	+	+
Entamoeba h.	?	?
Cryptosporidium spp.	-	+
Blastocystis spp.	+	-
Dientamoeba f.	-	+
Cyclospora c.	?	?



Blastocystis: quale significato?





Panoramica delle distribuzioni percentuali del sottotipo (a) e dell'intra-sottotipo (b) all'interno della sottopopolazione positiva *a Blastocystis* .

https://doi.org/10.1111/1574-6941.12396

The microbial eukaryote *Blastocystis* is a prevalent and diverse member of the healthy human gut microbiota FREE

Pauline D. Scanlan, Christen R. Stensvold, Mirjana Rajilić-Stojanović, Hans G.H.J. Heilig, Willem M. De Vos, Paul W. O'Toole, Paul D. Cotter Author Notes

https://doi.org/10.3390/microorganisms7120649

***Blastocystis* Colonization Is Associated with Increased Diversity and Altered Gut Bacterial Communities in Healthy Malian Children**

by Aly Kodio [1,2], Drissa Coulibaly [3], Abdoulaye Kassoum Koné [3], Salimata Konaté [3], Safiatou Doumbo [3], Abdoulaye Guindo [3], Fadi Bittar [2,4], Frédérique Gouriet [2,4], Didier Raoult [2,4], Mahamadou Aly Thera [3] and Stéphane Ranque [1,2,*]

Conclusioni

I sistemi molecolari, specialmente multiplex, rappresentano un valido strumento per la diagnostica rapida:

- **agenti virali;**
- ***Clostridioides difficile***
- **agenti batterici**

Per la nostra esperienza l'implementazione del sistema molecolare potrebbe consentire:
- un rilevamento virale e patogeni difficili
- una riduzione del carico di lavoro*
- una significativa diminuzione del tempo di refertazione*

TEST NEGATIVO

un test negativo consente di indirizzare le cure e/o dimettere il paziente escluderlo dall'isolamento

TEST POSITIVO

patogeni batterici/parassiti è necessaria una conferma con altro metodo

Un ringraziamento va al team del settore «Biologia Molecolare»

dr.ssa Antonella Meliadò
dr. Claudio Muzzupappa

U.O.C. Microbiologia e Virologia

Dir. Luigi Principe
dr.ssa Antonella Meliadò
dr.ssa Chisari Mattia
dr.ssa Angela Oliva
dr.ssa Daniela Marcuccio
dr.ssa Domenica Ielo
dr.ssa Martina Bonofiglio
dr. Claudio Muzzupappa
dr. Francesco D'Aleo

TSLB
dr.ssa Rossella Freno
dr.ssa Federica Romeo
dr.ssa Jessica Miroddi
dr.ssa Angela Lo Giudice
dr.ssa Miriam Pelle
dr.ssa Anna Chirico
dr. Natale Cilione
dr. Claudio Alescio
dr. Carmelo Papola

CATANZARO, 12 APRILE 2024

Le opere che avete visto sono di :
Antonello Gagini
(Palermo, 1478 – 1536)

CATANZARO, 12 APRILE 2024

Pannelli sindromici: esperienza del GOM di Reggio Calabria

Francesco D'Aleo
Dirigente I livello
U.O.C. Microbiologia e Virologia
GOM – Grande Ospedale Metropolitano
Reggio Calabria

francesco.daleo@ospedalerc.it
https://www.researchgate.net/profile/Francesco-Daleo-4

Carmelo Papola
T.S.LB.
U.O.C. Microbiologia e Virologia
GOM – Grande Ospedale Metropolitano
Reggio Calabria

carmelo.papola@ospedalerc.it

CATANZARO, 12 APRILE 2024