

Il Tecnico di Laboratorio e la diagnostica molecolare
infettivologica: nuove competenze per nuovi scenari

Pordenone, Palazzo Montereale Mantica, 5 Maggio 2012



La medicina molecolare infettivologica, tra nuove diagnostiche e nuovi scenari

A. Camporese, Microbiologia e Virologia - Pordenone



I recenti progressi nel campo delle biotecnologie e della biologia molecolare hanno giocato un ruolo chiave nello sviluppo di **nuove indagini rapide specifiche e sensibili** per la diagnosi diretta infettivologica.

Tonukari NJ. <http://www.academicjournals.org>



L'ottimizzazione delle strategie diagnostiche in microbiologia dovrebbe essere sviluppata adattandola a:

- evoluzione delle tecnologie;
- tipologia di pazienti (bambini, anziani, immunocompromessi...);
- numero e la tipologia degli agenti eziologici che si intendono indagare;
- risorse umane, economiche e gestionali a disposizione (budget, infrastrutture, strumenti, staff, orario di apertura limitato o esteso durante la giornata/settimana)

Sono cambiati contesti, opportunità e difficoltà nella gestione della diagnostica microbiologica

1. E' cambiato il volto delle **patologie infettive**
2. E' cambiata la tipologia dei **pazienti**
3. Sono cambiate le **tecnologie**
4. Sono cambiate le **risorse umane**
5. E' cambiato il **panorama economico**

Sono cambiati contesti, opportunità e difficoltà nella gestione della diagnostica microbiologica

1. E' cambiato il volto delle **patologie infettive**
2. E' cambiata la tipologia dei **pazienti**
3. Sono cambiate le **tecnologie**
4. Sono cambiate le risorse umane
5. E' cambiato il panorama economico

Per **migliorare l'impatto clinico** dei risultati microbiologici, uno degli elementi emergenti consiste nel **ridurre il tempo** necessario per produrre i risultati analitici.

S.C. Microbiologia e Virologia



Microrganismi	Hybridization probe	Real-time PCR sonde FRET	Real-time PCR sonde TaqMan	Multiplex PCR	PCR nested	Sequenza	LAB on Chip
<i>M. tuberculosis</i> complex; <i>M. intracellulare</i> , <i>M. avium</i> ; <i>M. avium</i> complex; <i>M. goodii</i>	X						
<i>M. tuberculosis</i> <i>IsrA</i>							X
<i>S. aureus</i> MRSA							X
<i>Clostridium difficile</i>							X
Sepsi: n.6 Gram+, n.8 Gram -, n.6 funghi		X					
Meningiti batteriche (§)			X				
HSV-1, HSV-2, VZV, CMV, EBV, HHV-6, HHV-8; Enterovirus; Adenovirus; parvovirus B19; BKV, JCV			Xq				
HHV-7; TOSV					X		
Virus respiratori n.15				X			
<i>C. pneumoniae</i> , <i>M. pneumoniae</i> , <i>L. pneumophila</i>			X				
<i>C. trachomatis</i>			X				
HPV n. 37 genotipi ad alto e basso rischio				X (Linear Array HPV genotyping)			
<i>L. interrogans</i>		X					
<i>P. jirovecii</i>					X		
<i>B. anthracis</i>		X					
HIV, HCV, HBV			X			X	

(§) *K. pneumoniae*, *E. coli*, *S. agalactiae*, *L. monocytogenes*, *N. meningitidis*, *S. pneumoniae*, *H. influenzae*

New technology for rapid molecular diagnosis of bloodstream infections

Expert Rev. Mol. Diagn. 10(4), 399–415 (2010)

Technology Report

Ecker, Sampath, Li *et al.*

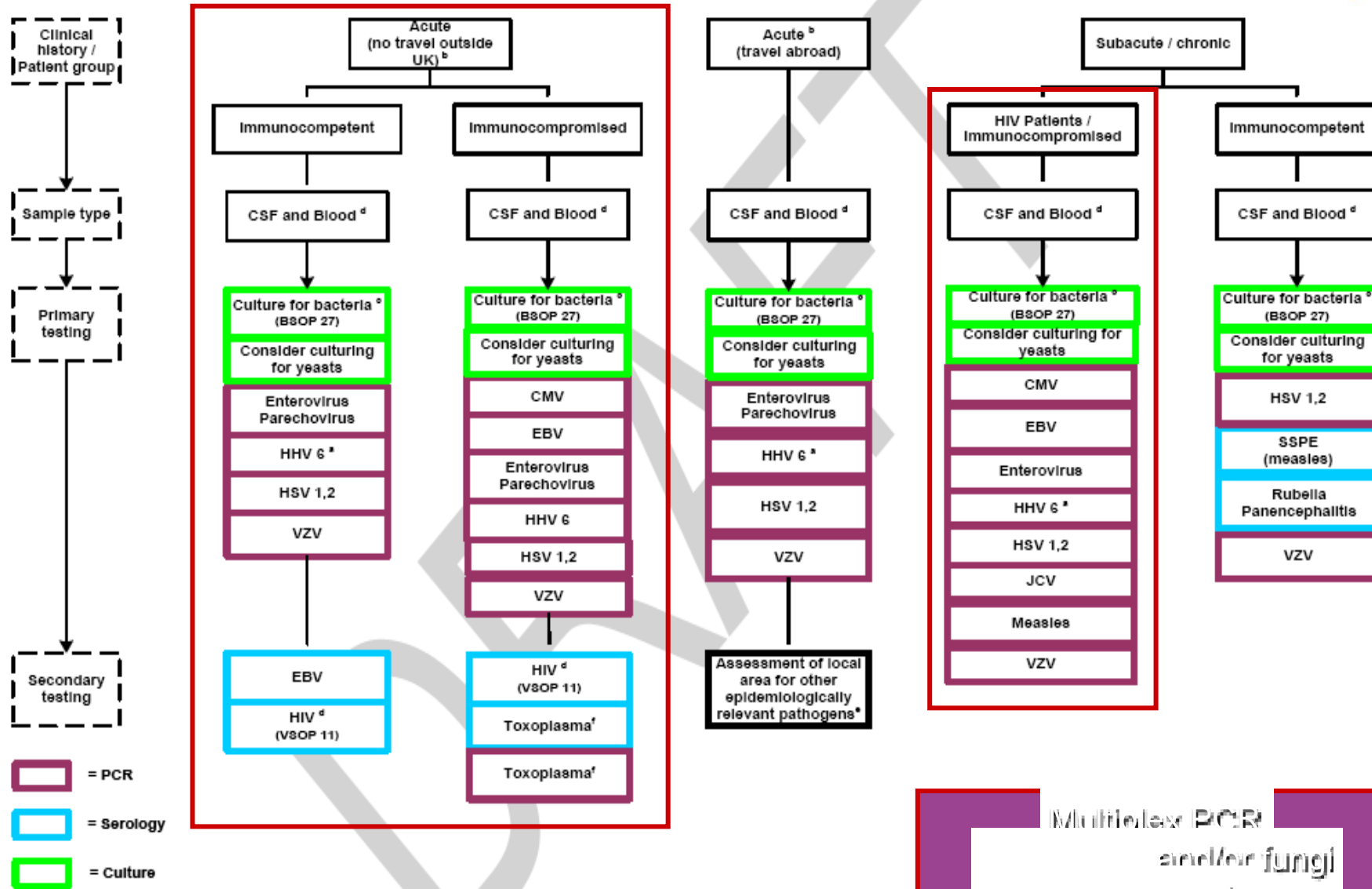
In the case of the most serious bloodstream infections, **speed is of the essence.**

Blood culture is not an ideal gold standard: the results come too late, are potentially misleading, to the point where the recommendations are to ignore them in many cases.

Molecular method is sufficiently rapid, accurate and informative, and **should be the long-term objectives for diagnosis of bloodstream infections.**

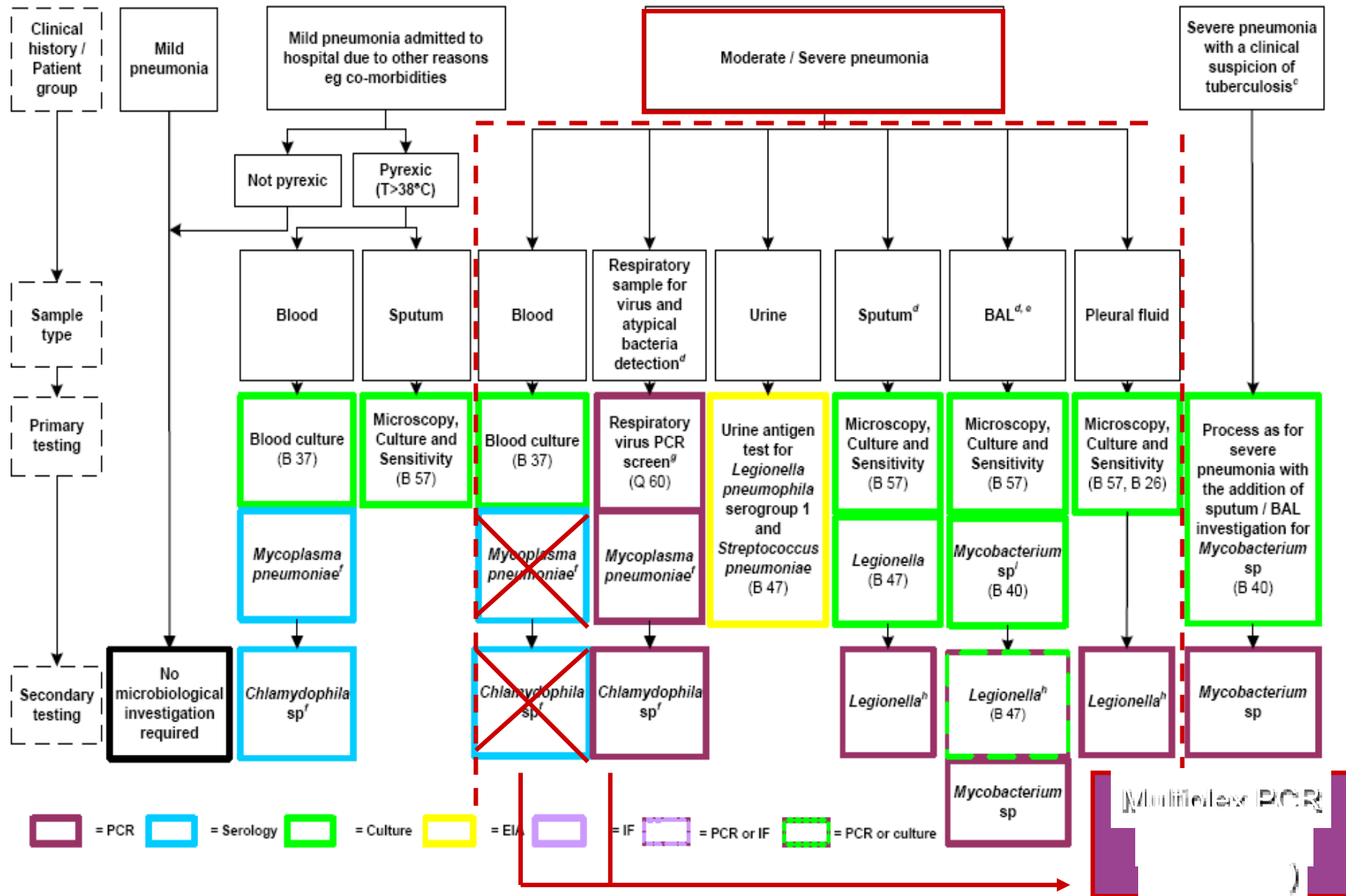


Encephalitis Flowchart

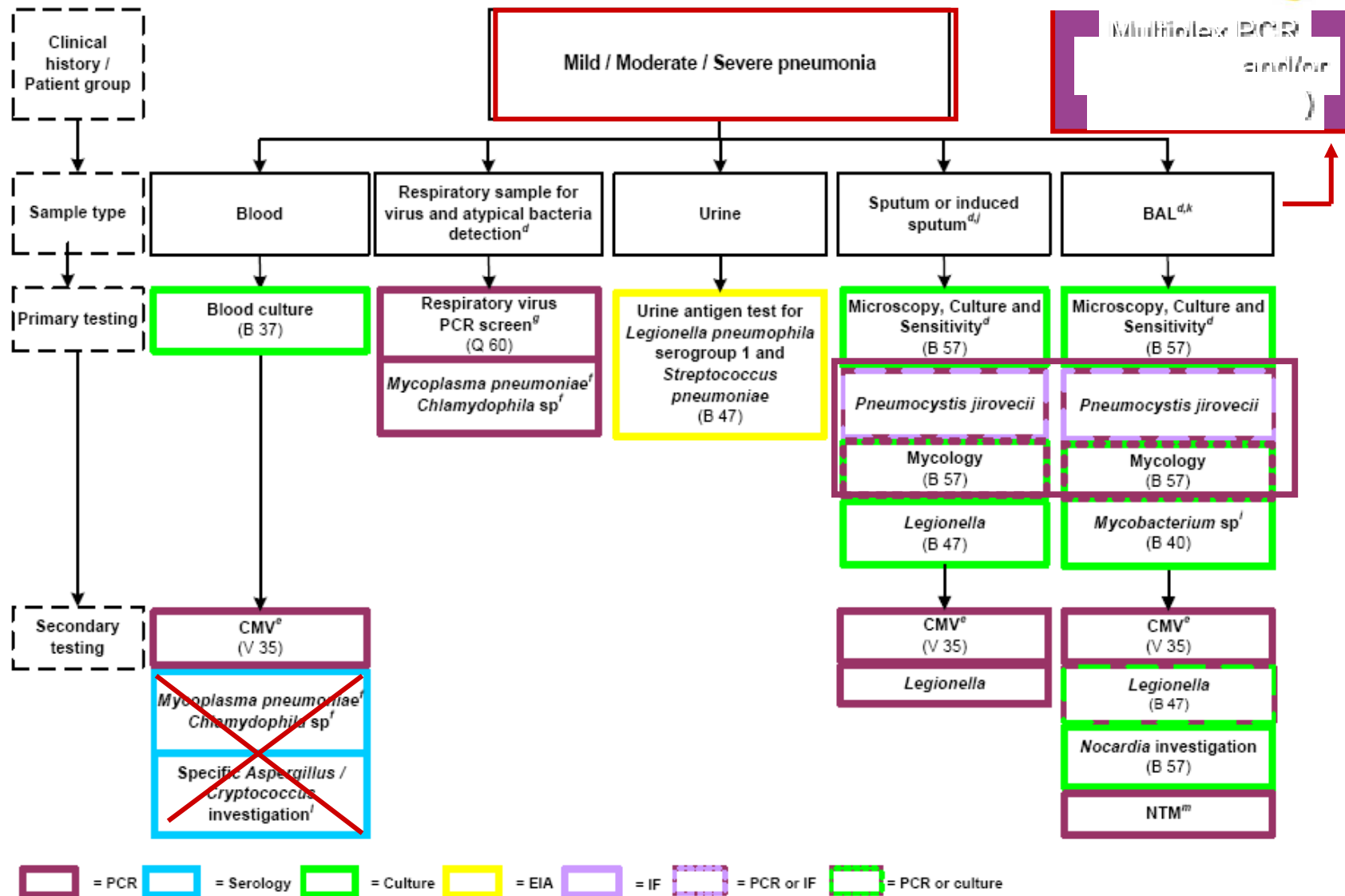


Multitox PCR
 and/or fungi

Pneumonia in immunocompetent adults^{1-8, b}

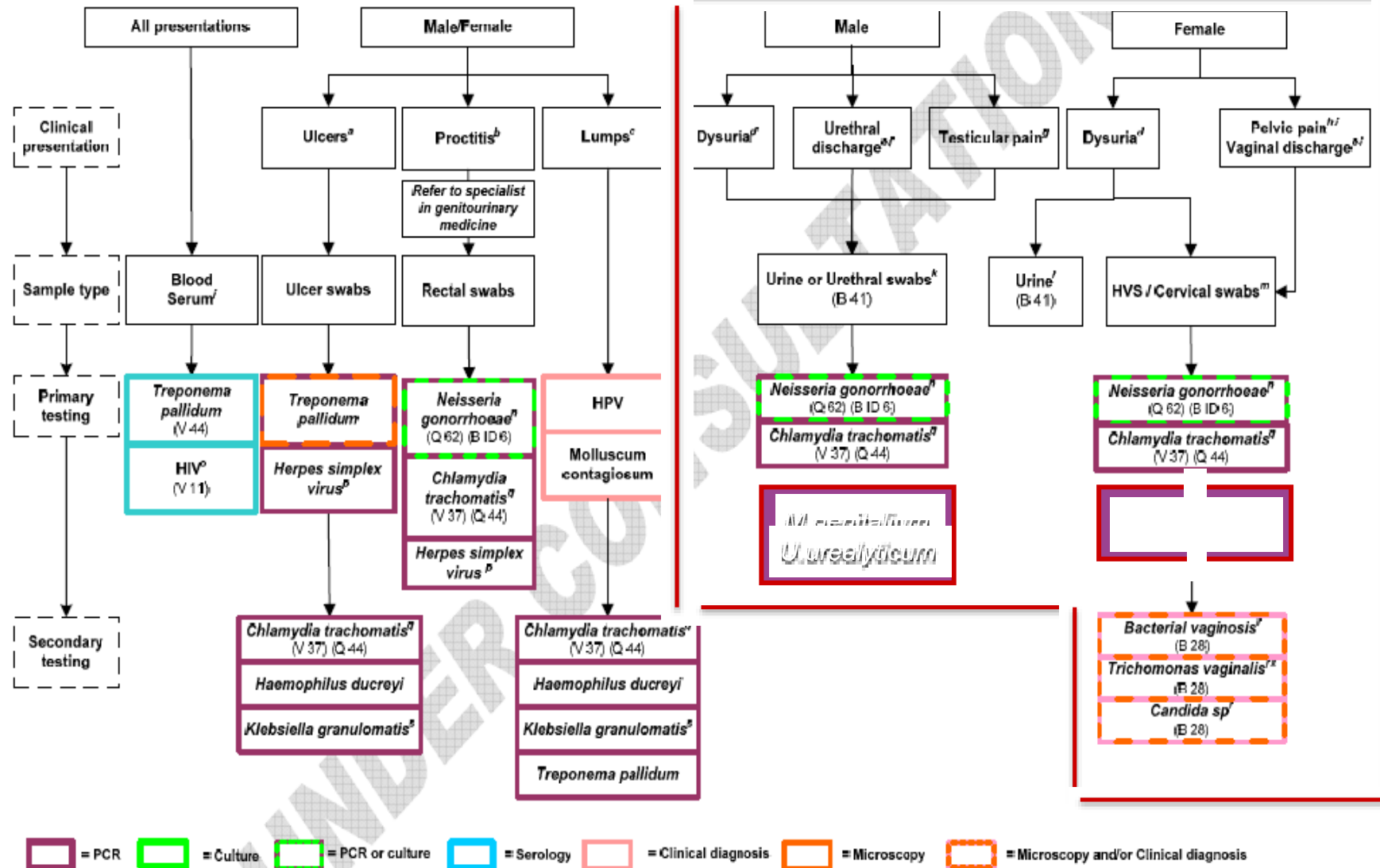


Pneumonia in immunocompromised adults^{1-8, b}



Sexually Transmitted Infections Flowchart

Cervicitis and urethritis



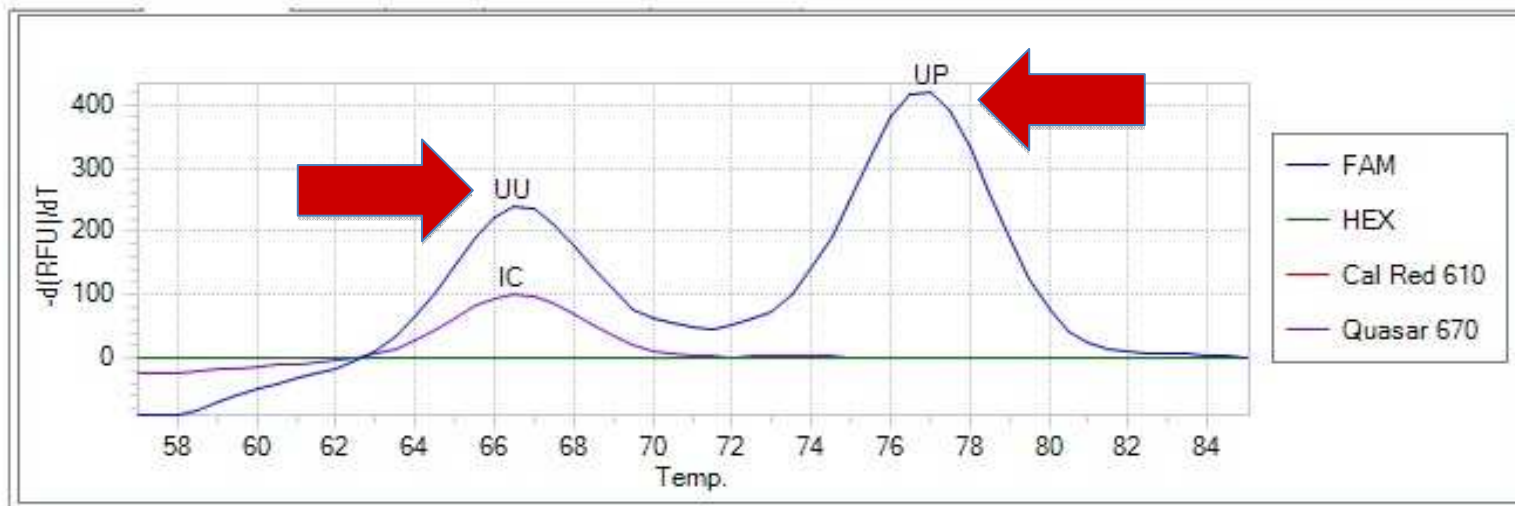
M. parvum o *U. urealyticum*?

Dal confronto tra risultato colturale e molecolare:

- ❑ 70% *Mycoplasma parvum*
- ❑ 15% *Ureaplasma urealyticum*
- ❑ 15% *M. parvum* + *U. urealyticum*



Camporese A et al. Dati non pubblicati.

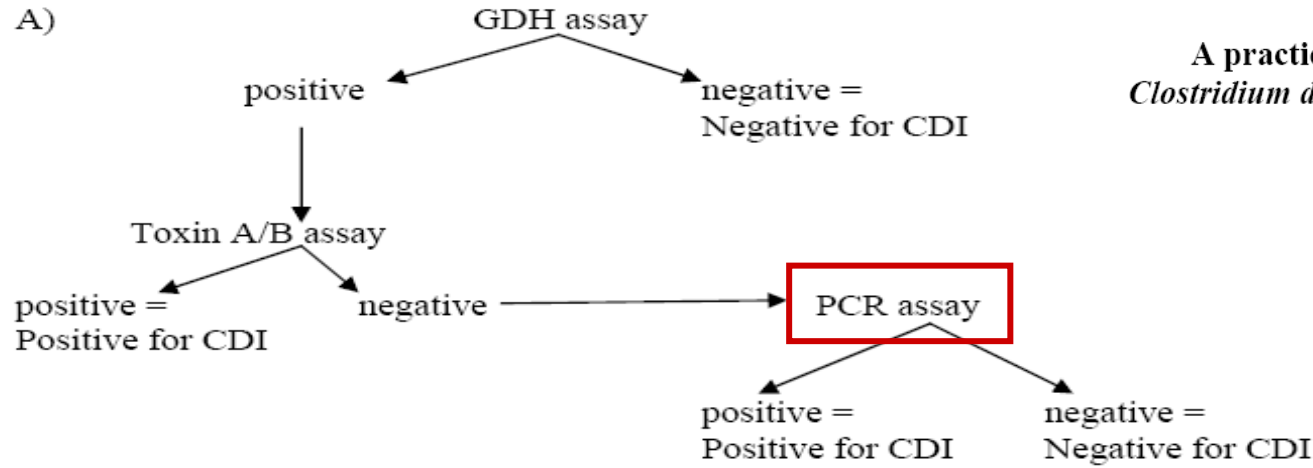


THREE SAMPLE ALGORITHMS:

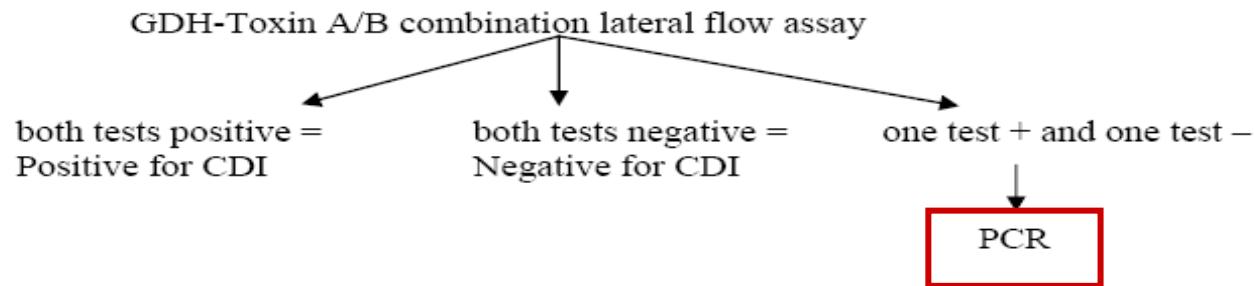


**A practical guidance document for
Clostridium difficile toxin laboratory testing
August 24, 2010**

A)



B)



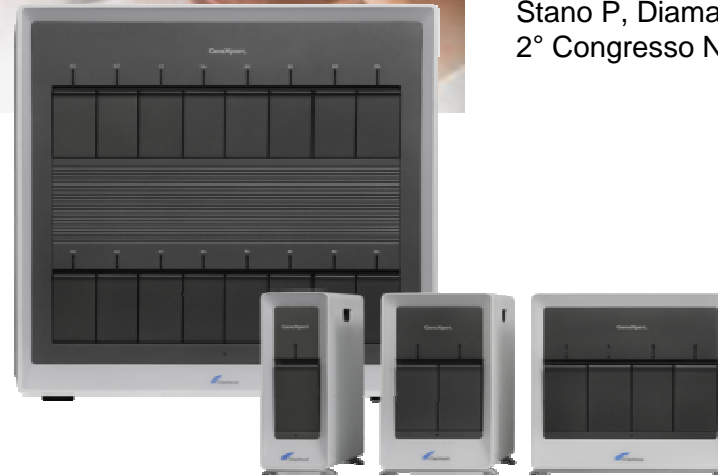
C) PCR as stand alone testing

L' algoritmo è stato ripreso dalla SIMPIOS (*Società Italiana Multidisciplinare per la Prevenzione delle Infezioni nelle Organizzazioni Sanitarie*) e pubblicato su: *GImPIOS* 2011 (Suppl.vol.1, n.2).



GeneXpert MTB/RIF assay, oltre a identificare in **circa 2 ore** *M.tuberculosis*, è in grado di rilevare contestualmente anche **eventuali mutazioni del gene *rpoB***, responsabili della resistenza alla **rifampicina**, quale marker di multiresistenza.

Stano P, Diamante P, Camporese A.
2° Congresso NewMicro 2012.





POCT molecolari possono essere previsti anche in laboratori *spoke*, se necessari per una migliore gestione del paziente critico e la sicurezza.



I vantaggi dell'automazione totale in medicina molecolare

I più recenti sistemi analitici in totale automazione dedicati alla diagnostica molecolare sono in grado di migliorare l'efficienza del flusso di lavoro, dall'allestimento del campione, all'amplificazione e alla rivelazione.



Nuovi scenari

1. Tutta la **diagnostica virologica diretta è già ora** molecolare
2. Più del 70% della **diagnostica batteriologica diretta sarà** molecolare a medio termine (max 5-7 anni), al ricambio strumentale/tecnologico attuale:
 - Sepsi
 - Meningiti
 - Diarree infettive
 - Malattie sessualmente trasmesse
 - Infezioni delle vie respiratorie
 - Controllo ICA (*C.difficile*, MRSA)
 - Diagnostica *alert organisms* (*C.difficile*, micobatteri, MDR)
3. **L'automazione** delle diverse fasi analitiche molecolari **è già** una realtà, in forte implementazione a breve/medio termine.
4. **POCT molecolari** per urgenza/emergenza **già** disponibili.

Sono cambiati contesti, opportunità e difficoltà nella gestione della diagnostica microbiologica

1. E' cambiato il volto delle patologie infettive
2. E' cambiata la tipologia dei pazienti
3. Sono cambiate le tecnologie
4. Sono cambiate le **risorse umane**
5. E' cambiato il **panorama economico**

Cambiano le risorse umane

- Perdita di *senior specialists*
- Aumento dell'età media
- Ridotto ricambio generazionale
- Riduzione della *job satisfaction*
- Scarsa propensione al cambiamento

Qualsiasi lavoro tu faccia, **se trasformi in arte ciò che stai facendo**, con ogni probabilità scoprirai di essere divenuto per gli altri una persona interessante.

Robert M. Pirsig: Lo Zen e l'arte della manutenzione della motocicletta. Adelphi, 1974.

Aree vaste, consolidamento, automazione dei processi...



Consolidamento e aree vaste: contesti e scenari

- Automazione preanalitica/analitica molecolare
- Consolidamento diagnostiche molecolari
- Evoluzione della tecnologia informatica
- *Pathology oriented Lab*
- *Technology oriented Lab*
- Laboratori h24

Nuovi scenari

- **Laboratori h24**: sono più *cost-effective*, riducendo il TAT e migliorando l'efficienza economica degli investimenti.
- ***Pathology oriented Lab***: la diagnostica va dove c'è lo specialista *pathology oriented* (microbiologo).
- ***Technology oriented Lab***: la diagnostica va dove c'è lo specialista *technology oriented (molecular generalist)*.

Technology Oriented Lab:

il declino dell'autonomia microbiologica nella visione dei microbiologi anglosassoni

Ciò che emerge da autorevoli esponenti dell'ambiente microbiologico internazionale è una rassegnata presa d'atto che i processi di **consolidamento e integrazione diagnostica** condurranno a **laboratori di microbiologia fagocitati da anonime realtà** gestite da ***generalists e cross-trained technologists***, volte soltanto all'economia di scala e al miglioramento del *turnaround time*.

La visione possibilista della SIMeL

Qualunque progetto di consolidamento che tenda a implementare l'efficienza senza detrimento per la qualità e con la garanzia del mantenimento delle autonomie culturali e delle peculiarità scientifiche, tecniche e formative può rappresentare un processo di crescita e non necessariamente un impoverimento della professione del microbiologo.

L'esperienza insegna? Pare di no.

- Screening HPV affidato alle Anatomie Patologiche
- NAT HCV-HIV RNA su unità di sangue affidata ai servizi Immunotrasfusionali



Verso il Piano sociosanitario regionale 2010-2012

**La vita sana
nella società responsabile**
*Libro verde sul futuro
del sistema sociosanitario regionale*

**Proposte per l'ottimizzazione
delle attività e delle competenze
dei laboratori di Microbiologia e Virologia del FVG,
in previsione del Piano Sanitario
e Socio-Sanitario Regionale 2009-2011**

Alessandro Camporese, Claudio Scarparo

Alla luce delle attuali normative nazionali e regionali, l'Area della Medicina di Laboratorio include le seguenti discipline:

i) Patologia Clinica e/o Biochimica Clinica; ii) Microbiologia e Virologia; iii) Genetica; iv) Immunoematologia e Medicina Trasfusionale.

Alla disciplina di Microbiologia e Virologia sono istituzionalmente riconosciute e ricondotte tutte le specifiche competenze nell'ambito della diagnostica delle malattie infettive (Batteriologia, Micobatteriologia, Micologia, Virologia, Parassitologia, Sierologia e Biologia Molecolare infettivologica).

1. Legge 21 ottobre 2005, n. 219 " Nuova disciplina delle attività trasfusionali e della produzione nazionale degli emoderivati".
2. Ministero della Salute - Consiglio Superiore di Sanità, Sessione XLV. Esiti sedute del 13 dicembre 2007 e 13 febbraio 2008. Sezione II, 14/03/2008.
3. Ministero della Salute - Ministero dell'Economia e delle Finanze. Adempimenti previsti dalla Legge Finanziaria 2007.
4. Piano Regionale di riorganizzazione della Rete delle Strutture Pubbliche di Diagnostica di Laboratorio (Art 1, Comma 796, Lettera O della Legge 296/2006). Oggetto: Linee guida sui contenuti del Piano sulla rete laboratoristica.

Condividere e consolidare?

In base a quali strategie e criticità...?

- Organizzazione delle attività “per competenza”, con disponibilità di *consultant* adeguatamente formati e personale tecnico specificatamente formato
- Spazi disponibili, percorsi, orari, e strumenti disponibili (*batch, random access...*)
- Tipologia di analisi disponibili rapportate a tipo di campione/strumento/target specifici (es.: sepsi)
- Livello di automazione e di prevenzione delle contaminazioni
- Operatività strumentale (in urgenza, fuori orario, h24...)
- Disponibilità di sistemi analitici validati su matrici diverse
- Qualità ed estensione della rete dati e appropriatezza del TAT

Efficienza, efficacia della diagnostica molecolare
infettivologica in area vasta:
fase preanalitica e costi economici.

- **La fase preanalitica** (prelievo, trasporto, *sorting*) è influenzata dalla diversificazione diagnostica e dalla scelta strumentale.
- **L'impatto economico** è davvero il principale freno per lo sviluppo dell'opzione molecolare?
- Il **“conto economico per patologia”** è davvero sempre sempre più elevato rispetto al panorama diagnostico tradizionale ?

Prelievo liquido e automazione: una nuova frontiera nel *management* del laboratorio di microbiologia



struction on the Information Highway



Il corretto trasporto dei campioni clinici è uno dei più importanti fattori che possono influire sull'efficacia diagnostica microbiologica.

Sorting malattie sessualmente trasmesse (MST)

Tampone vaginale/cervicale in procedura tradizionale (colturale +/- molecolare)

1. vetrino per microscopia strisciato (o un tampone per esecuzione microscopia)
2. tampone per esame colturale
3. Thayer Martin per Neisseria
4. flaconcino per colturale Trichomonas
5. flaconcino per Mycoplasmi
6. provetta per Chlamydia, Herpes/HPV

Tampone vaginale/cervicale in terreno liquido + molecolare

1. provetta Eswab (microscopia + colturale)
2. provetta Eswab (Chlamydia, Mycoplasmi, Neisseria, Trichomonas)
3. provetta UTM (Herpes/HPV)



Costa...? Ma quanto costa...?

L'esempio delle STIs

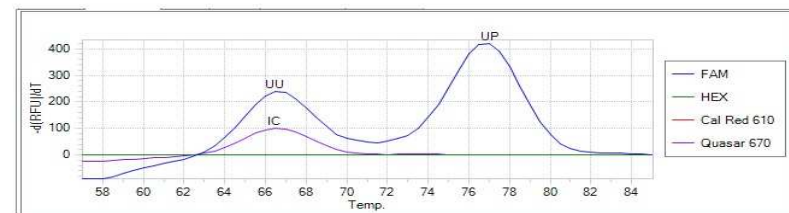
1. Colturale+microscopia } (1€)
2. Colturale *Neisseria* }
3. Colturale *Trichomonas* (1.5 €)
4. Colturale *Mycoplasmi* (da 9 a 12€)
5. *Chlamydia* PCR (media 15 €)
6. (Herpes/HPV)

Totale: da 26 a 30 € circa/paz.



1. Colturale+microscopia
2. Molecolare:
 - *Chlamydia*
 - *Neisseria*
 - *Trichomonas*
 - *Mycoplasmi* (compreso *M.genitalium*)

Totale: 22 €/paz.



Efficienza, efficacia della diagnostica molecolare infettivologica in area vasta e *turnaround time*.

- La diagnostica molecolare infettivologica diretta nasce con l'intento di **ridurre il TAT**.
- Ogni area di emergenza deve prevedere almeno un laboratorio *hub* che garantisca **TAT "adeguati alle necessità cliniche"** (ISO 15189:2003).
- **Sull'adeguatezza del TAT pesa il rapporto** tra distanze, efficienza dei trasporti, continuità analitica del laboratorio *hub*, disponibilità ed efficienza strumentale, efficienza della rete informatica.

Efficienza, efficacia della diagnostica molecolare infettivologica in area vasta e **organizzazione**.

- Per garantire efficienza ed efficacia della diagnostica molecolare infettivologica in fase acuta non si può prevedere un consolidamento superiore alle **dimensioni provinciali**.
- Nella diagnostica infettivologica di area critica (sepsi, meningiti...) **non basta garantire** poli diagnostici *Technology Oriented*, “costruiti” intorno ai metodi analitici.
- Poli diagnostici *Pathology oriented*, “per disciplina” garantiscono **qualità e competenze**.

E' possibile che la “*genomania*”, istituendo l'ambito molecolare come principale riferimento in medicina, ci spinga a scambiare **gli strumenti** di laboratorio **per concetti**, e **l'abilità** nell'utilizzarli **per intelligenza...**

Testart J, Godin C. La vita in vendita. Torino: Lindau Ed.; 2004



Il Tecnico di Laboratorio e la diagnostica molecolare
infettivologica: nuove competenze per nuovi scenari

Pordenone, Palazzo Montereale Mantica, 5 Maggio 2012



Vi ringrazio per
l'attenzione



ERROR: undefined
OFFENDING COMMAND: La

STACK:

```
(6)  
/Title  
( )  
/Subject  
(D:20120508100050+02'00')  
/ModDate  
( )  
/Keywords  
(PDFCreator Version 0.9.5)  
/Creator  
(D:20120508100050+02'00')  
/CreationDate  
(5317841)  
/Author  
-mark-
```