

M001

ANALISI RETROSPETTIVA DEI RISULTATI OTTENUTI DALLE EMOCOLTURE ESEGUITE NEL QUADRIENNIO 1999-2002 PRESSO L'OSPEDALE DI CREMA

Bonetti C., Arsola L., Fava L., Lucchi M.G., Mantovani L., Montanelli A.

Dipartimento di Patologia Clinica,
AO Ospedale Maggiore di Crema

Scopo: Calcolare la percentuale di positività e il tipo di batteri isolati su 4707 emocolture al fine di esprimere una valutazione di raffronto con i dati della letteratura.

Materiali e metodi: Le emocolture sono state allestite con il sistema Bactec secondo la procedura suggerita dalle ditte fornitrici. Dai brodi dei flaconi risultati positivi sono state allestite colture su piastra. Identificazione e antibiogramma sono stati realizzati mediante il sistema Vitek della ditta BioMérieux.

Risultati: Nei 4 anni considerati il numero totale delle emocolture richieste è aumentato, mentre i tassi di positività riscontrati sono rimasti invariati: 11,1 % su 868 nel 1999, 13,3 % su 906 nel 2000, 9,8 % su 1441 nel 2001 e 9,4 % su 1492 nel 2002.

Sono stati effettuati i seguenti isolamenti:

	1999	2000	2001	2002
GRAM -				
E. COLI	16	26	25	28
K. PNEUMONIAE	1	5	2	5
P. AERUGINOSA	10	3	8	7
B. CEPACIA	12		3	
A. FAECALIS	1			
A. BAUMANII	4	2		
P. MIRABILIS	3	2	6	4
E. CLOACAE	1		3	4
C. DIVERSUS	3			1
X. MALTOPHILIA	1	1	2	
S. MARCESCENS		1	4	3
SALMONELLA			3	
GRAM +				
S. AUREUS	23	22	26	23
S. COAG. NEG.	14	46	40	45
E. FAECALIS	7	11	3	3
S. PNEUMONIAE			7	4
S. VIRIDANS		1	3	6
S. AGALACTIAE		1	1	1
S. GRUPPO G1				
MICETI				
C. ALBICANS			3	2
C. GLABRATA			2	
C. TROPICALIS				2
C. PARAPSILOSIS				1

Conclusioni: L'analisi dei dati del quadriennio consente le seguenti osservazioni:

- Progressivo aumento dell'isolamento dei batteri GRAM +, mentre i GRAM - sono rimasti invariati
- Incremento dell'isolamento degli Stafilococchi coagulasi negativi, mentre l' aureo è rimasto costante
- Assenza di batteriemie polimicrobiche
- Comparsa di miceti nei reparti di Rianimazione e Chirurgia
- Diminuzione degli isolamenti di *Pseudomonas* e comparsa di *Enterobacter* e *Serratia*, soprattutto nel reparto di Rianimazione

Quanto da noi riscontrato è complessivamente in linea con i dati della letteratura e conferma l'assoluta importanza dell'emocoltura per monitorare i reparti a rischio e individuare e porre tempestivamente sotto controllo eventuali serbatoi di batteri opportunisti.

M002

PATOGENI ENTERICI ISOLATI DA FECI DI PAZIENTI SINTOMATICI IN UNA POPOLAZIONE DEL NORD-BARESE NEL PERIODO GENNAIO 1996 - DICEMBRE 2002.

Del Gaudio T., Porzio M., Ricciardi E., Miragliotta G.*

Laboratorio Analisi P.O. Di Andria AUSL BA/I

*Cattedra Di Microbiologia, Dipartimento MIDIM,
Università Di Bari.

Le enteriti presentano nei paesi industrializzati rilevante morbilità con alti costi sanitari e sociali. Sebbene si presenti in soggetti di tutte le età, l'enterite acuta colpisce prevalentemente bambini e adulti in età geriatrica. Allo scopo di verificare la frequenza di isolamento degli agenti responsabili di enterite abbiamo considerato 3874 coprocolture eseguite presso il nostro laboratorio nel periodo gennaio 1996-dicembre 2002. I campioni provenivano prevalentemente da soggetti sintomatici: 2976 soggetti pediatrici e 898 adulti; 1413 ambulatoriali e 2461 ospedalizzati. In ogni campione è stata effettuata coprocoltura per *Salmonella* spp, *Shigella* spp, *Campylobacter* spp e, nei bambini al di sotto dei 6 anni, la ricerca di Adenovirus e Rotavirus. 635/3874 campioni esaminati (16,3 %) sono risultati positivi; 502/635 (79,0 %) provenivano da pazienti ospedalizzati (458 soggetti pediatrici e 44 adulti) e 133/635 (21,0 %) da pazienti ambulatoriali (105 soggetti pediatrici e 28 adulti). In particolare sono stati riscontrati 242 (38,1 %) Rotavirus, 70 (11,0 %) Adenovirus, 248 (39,0%) *Salmonella* spp., 57 (9,0 %) *Campylobacter jejuni*, 1 (0,1 %) *Campylobacter coli*, 14 (2,2 %) *Shigella sonnei*, 3 (0,5%) *Shigella flexneri*. Per quanto riguarda la stagionalità, Rotavirus è stato prevalente nel periodo gennaio-agosto (picco di isolamento nel mese di aprile); Adenovirus prevalente nel periodo agosto-novembre (picco di isolamento nel mese di novembre); *Salmonella* spp prevalentemente nel periodo giugno-novembre (picco di isolamento nel mese di agosto); *Campylobacter* spp è stato isolato indifferentemente durante tutti i mesi dell'anno con un lieve picco nel periodo giugno-luglio, mentre i rari isolamenti di *Shigella* spp si sono verificati nel periodo maggio-ottobre. Dal nostro studio si evidenzia che nel periodo febbraio-maggio sono stati riscontrati 195 campioni positivi (30,7 %), dei quali 154 (79,0%) ad etiologia virale e 41 (21,0 %) ad etiologia batterica. Nel periodo giugno-ottobre si è osservato un incremento dei campioni positivi (331 pari al 52,1 %), dei quali 110 (33,2%) ad etiologia virale e 221 (66,8 %) etiologia batterica. In particolare, nel periodo maggio-settembre si è avuto un costante decremento dei campioni positivi per Rotavirus in contrapposizione ad un netto incremento di campioni positivi per *Salmonella* spp. Nel periodo novembre-gennaio si è osservato decremento (109 pari al 17,2 %) di campioni positivi (45,0% ad etiologia virale e 55,0 % ad etiologia batterica). Da segnalare, infine, un picco di campioni positivi per *Salmonella* spp nel mese di gennaio, probabilmente per il consumo di prodotti ittici crudi durante il periodo natalizio.

M003**STUDIO DELL'ANTIBIOTICO-RESISTENZA SUI GERMI ISOLATI DALLE URINOCOLTURE NEL PERIODO 2000/2002.**

Tresca E.; Ridolfi D.; Della Pelle C.; Mascitelli M.

Laboratorio Analisi Chimico Cliniche e Microbiologia
P.O. "S. Massimo" Penne (PE).

Lo studio presentato è una valutazione dell'antibiotico resistenza riscontrata in ceppi batterici isolati dalle urinocolture pervenute presso il nostro Laboratorio nei periodi 01/01/2000-31/12/2000; 01/01/2001-31/12/2001 e 01/01/2002-31/12/2002 al fine di valutare la frequenza di isolamento dei principali batteri causa di infezione delle vie urinarie e rilevare la variazione delle resistenze a farmaci antibatterici dei germi isolati da campioni di urine con carica $\geq 10^5$ UFC/ml

Materiali e metodi:

Nel periodo di studio gennaio 2000 - dicembre 2002 sono stati processati 12379 campioni di urine, prelevate da pazienti ricoverati e ambulatoriali esterni. Le urine sono state seminate su piastra mediante ansa calibrata da 10 μ l, per l'identificazione batterica e l'antibiogramma abbiamo utilizzato il sistema automatico Vitek (BioMerieux)

Risultati:

Nel periodo 01/01/2000 - 31/12/2000 sono state eseguite n°3837 urinocolture di cui 894 (23,3%) positive, nel periodo 01/01/2001 - 31/12/2001 sono state eseguite n° 4075 di cui 1263 (31,0%) positive e nel periodo 01/01/2002 - 31/12/2002 sono state eseguite n°4467 di cui 1444 (32,3%) positive per un totale complessivo di n° 12379 urinocolture di cui 3601 (29,0%) positive.

La frequenza dei microrganismi isolati era di: n°1889 *E.coli* (52,4%) n°488 *Proteus spp* (13,5%) n°242 *Pseudomonas spp* (6,7%) n°247 *Klebsiella spp.* (6,8%) n°109 *Enterobacter spp* (3,0%) n°373 *Enterococcus spp.* (10,3%) n°111 *Staphylococcus aureus* (3,0%)

La sensibilità dei principali microrganismi Gram (-) all'ampicillina era: (61,34% in *E.coli*, 54% *Proteus spp.* ad amoxicillina-clav.: (84,7% *E.coli*, 70,3% *Proteus spp.*, 83,4% *Klebsiella spp.*, 16,5% *Pseudomonas spp.*); ai chinolonici: (91% *E.coli*, 90,8 *Proteus spp.*, 93,5 *Klebsiella spp.*, 61,2 *Pseudomonas spp.*) al trimethoprim/sulfametossazolo: (79,7% *E.coli*, 90,2 *Klebsiella spp.*, 40% *Proteus spp.*, 14,7% *Pseudomonas spp.*). I microrganismi Gram (+) sensibili alla penicillina G 74,8% *Enterococcus spp.*, alla ciprofloxacina: (71,7% *Staphylococcus aureus*, 57,7% *Enterococcus spp.*), alla vancomicina (100% *Enterococcus spp.*, 100% *Staphylococcus aureus*).

Conclusioni:

Dall'analisi delle frequenze dei ceppi batterici isolati si evidenzia il ruolo rilevante delle enterobacteriaceae. Riteniamo che lo studio della sensibilità agli antibiotici effettuato anche in territori limitati sia molto utile al clinico per stabilire i profili di sensibilità così da poter attuare una terapia empirica ottimale. I chinolonici, l'amoxicillina/ac.clav. e sulfametossazolo/trimethoprim possono rappresentare i farmaci di prima scelta per le infezioni urinarie prima dell'esito dell'antibiogramma.

M004**ACHROMOBACTER XYLOSOXIDANS IN PAZIENTI CON FIBROSI CISTICA: PREVALENZA, SENSIBILITÀ AGLI ANTIBIOTICI E VALUTAZIONE DI TERRENI CULTURALI SELETTIVI.**

Manno G., Minicucci L., Lorini R., Romano L.

Centro Fibrosi Cistica - Dipartimento di Pediatria
Università di Genova; Istituto G.Gaslini. Genova

Abbiamo preso in considerazione una casistica di pazienti con fibrosi cistica (FC).

Scopo: Abbiamo a) determinato la prevalenza di AX nei pazienti in cura presso il centro FC di Genova nel periodo dal 01/01/2000 al 31/12/2001, b) valutato la percentuale di isolamento (PI) in terreni selettivi primari c) determinato il pattern di sensibilità agli antibiotici.

Metodi: sono stati processati 835 espettorati e 453 tamponi faringei di 220 pazienti. I terreni comparati sono stati MacConkey agar (MC), OFPBL agar e un terreno-contenente-tobramicina (TC+TOB) (Eosina Metilene Bleu agar + 20 mcg/ml di TOB, amphotericina B e vancomicina). I ceppi di AX sono stati identificati biochimicamente (APINE). La sensibilità a TOB (range 0.12 - 256 mcg/ml), ceftazidime (CAZ), choramfenicolo (CHL), ciprofloxacina (CIP), imipenem (IM), meropenem (MER), piperacillina (PIP), PIP/tazob. (P/T), ticarcillin/clav. (TIM), cotrimossazolo (T/S) è stata determinata mediante microdiluzioni in brodo, applicando i breakpoints NCCLS per *P.aeruginosa* (PA). Su 6 ceppi di AX sono state eseguite con Etest 48 duplici e triplici associazioni di betalattamici + CIP e TOB per la determinazione delle sinergie.

Risultati: AX ha colonizzato 15 pazienti in modo persistente, 18 in modo transiente/sporadico (prevalenza 11% nel 2000, 13% nel 2001). La PI (%) di 92 AX, è stata: OFPBL 39, MC 45 e TC+TOB 94. La % di resistenza-MIC50/MIC90 (mcg/ml) sono state: TOB 96-16/256, CAZ 23 - 4/32, CHL 84 - 16/32, CIP 91 - 4/8, IMP 8.6 - 2/8, MER 15 - 1/8, PIP 19 - 16/28, P/T 13 - 8/64, TIM 19 - 2/128, T/S 54 - 2/8. CIP+PIP e CIP+CAZ, con o senza TOB, sono state le combinazioni attive.

Conclusioni: I nostri risultati confermano l'aumento di AX in pazienti FC. L'uso come terreno primario di TC+TOB aumenta la PI risultando utile nel monitoraggio dell'epidemiologia di AX. I carbapenemici, CAZ, PIP and P/T sono gli antibiotici più attivi.

M005**PATOGENI RESPIRATORI: SENSIBILITÀ AD OLI ESSENZIALI IN CONFRONTO AD ANTIBIOTICI**

Fabio A.*, Ricci L.*, Polese A.*, Artioli S.*, Ghidoni A.*, Forte E.**, Nanni H.**

*Laboratorio di Microbiologia, Arcispedale S. Maria Nuova, Reggio Emilia** ARPA Dipartimento Tecnico, Rimini***Dipartimento di Scienze Igienistiche, Microbiologiche, Biostatistiche.
Università di Modena e Reggio Emilia, Modena

Gli oli essenziali, tradizionalmente usati per infezioni del tratto respiratorio, vengono utilizzati ancora oggi soprattutto per inalazione. Ci è sembrato interessante verificarne l'effetto antimicrobico in confronto agli antibiotici su 60 ceppi iso-

lati da espettorati ed essudati bronchiali di pazienti ricoverati ed ambulatoriali: *Streptococcus agalactiae* e *pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas maltophilia*. Abbiamo saggiato l'attività di: arancio, bergamotto, cannella, chiodi di garofano, cipresso, eucalipto, finocchio, lavanda, limone, menta, rosmarino, salvia, timo seminando piastre con sospensioni contenenti 0,5 Mc Farland, depositandovi dischetti contenenti 10 ml di olio e misurando l'alone di inibizione prodotto. Gli antibiogrammi sono stati eseguiti con metodica Kirby Bauer o VITEK2. *Pseudomonas maltophilia*, *Streptococcus pneumoniae* e *agalactiae* mostravano notevole sensibilità verso gli oli di cannella e timo (aloni massimi rispettivi: 45-50, 40-35, 30-43 mm) seguiti da *Staphylococcus aureus* (22-24, 21-23) mentre *Klebsiella pneumoniae* risultava scarsamente sensibile. *Pseudomonas maltophilia* era sensibile ad una vasta gamma di oli (in ordine decrescente: chiodi di garofano, rosmarino, menta, lavanda, salvia, eucalipto, finocchio, eucalipto, bergamotto, limone, cipresso). Gli streptococchi erano mediamente sensibili a lavanda (aloni varianti da 11-18), menta (14-30), garofano (20-35) e scarsamente a salvia e rosmarino; *Streptococcus pneumoniae* si dimostrava complessivamente più sensibile. Riguardo all'antibioticoresistenza *Pseudomonas maltophilia* era sempre resistente a fosfomicina, imipenem e piperacillina e spesso anche ad aztreonam. Alcuni ceppi di *Streptococcus pneumoniae* e di *agalactiae* erano multiresistenti (rispettivamente a eritromicina, penicillina, amoxicillina, oxacillina, tetraciclina, cotrimossazolo e amoxicillina, cefalotina, clindamicina, eritromicina, penicillina, rokitamicina). *Staphylococcus aureus* era sempre resistente a oxacillina, ofloxacina, gentamicina, tobramicina, alcuni anche a norfloxacina. *Klebsiella pneumoniae* era insensibile a piperacillina, ampicillina e cefalozina. Gli stipiti antibioticoresistenti e antibioticosensibili mostravano identico comportamento verso gli oli saggiati. Alla luce dei risultati preliminari ottenuti e considerato l'interesse suscitato oggi dai composti di origine naturale, si ritengono opportuni ulteriori approfondimenti riguardo l'attività degli oli in grado di inibire lo sviluppo di batteri antibioticoresistenti.

M006

CONFRONTO METODI EIA/CLIA PER RICERCA IgG anti-*Helicobacter pylori* E VALUTAZIONE DELLA PROCEDURA DIAGNOSTICA

Nisticò S., Potente G.I., Leone R.A., Minchella P., Folino C., Cosentino C.

U.O. di Microbiologia e Virologia - A.S. n. 6 Lamezia Terme (CZ)

Introduzione L'infezione sostenuta da *Helicobacter pylori* (*Hp*) è riconosciuta non solo come causa principale della malattia ulcerosa peptica, ma anche come importante fattore di rischio per le neoplasie maligne dello stomaco. E' importante, pertanto, al fine di poter individuare facilmente i soggetti con infezione che necessitano di ulteriori approfondimenti diagnostici, poter disporre di sistemi analitici sensibili ed automatizzabili.

Scopo del lavoro è stato confrontare i risultati di un nuovo sistema in chemiluminescenza per la ricerca di anticorpi anti-*Hp* con il metodo immunoenzimatico utilizzato di routine nel nostro laboratorio.

Materiali e Metodi Sono stati testati 40 sieri di pazienti dispeptici per la ricerca di anticorpi anti-*Hp*, sia con metodica immunoenzimatica EIA (Helori IgG Chromo Eurospital) che

utilizza come antigeni la flagellina, le due sub-unità dell'ureasi e la citotossina, sia con metodica in chemiluminescenza CLIA (*Helicobacter pylori* IgG Antibodies Nichols Institute Diagnostics, distribuito dalla Ditta DiaSorin) che utilizza un mix antigenico di *Helicobacter pylori*, applicato al sistema Liaison DiaSorin. I sieri con risultato discordante tra i due metodi sono stati ulteriormente analizzati con un test di conferma basato su metodica Western Blot (WB *Hp* Amplimedical), che utilizza strips di nitrocellulosa con frazioni antigeniche di *Helicobacter pylori*.

Risultati e Discussione I risultati ottenuti sui 40 sieri sono stati i seguenti:

- n. 23 concordanti (con entrambi i metodi)
- n. 17 discordanti (positivi CLIA e negativi EIA).

I sieri con risultato discordante, analizzati con il test Western Blot, sono risultati tutti positivi per due o più bande specifiche.

Conclusioni Riteniamo, in base ai risultati ottenuti, che il metodo CLIA abbia una sensibilità maggiore rispetto all'EIA, probabilmente per una elevata capacità del sistema di rilevare le *Hp* IgG, anche se presenti in minima quantità; richiede, tuttavia, una strumentazione dedicata che potrebbe limitarne l'utilizzo come test di screening nella routine. La minore sensibilità del sistema immunoenzimatico si può spiegare con il probabile ingombro sterico di alcune proteine ad alto peso molecolare, come citotossina o tossina vacuolizzante di *Hp*, nei confronti del legame con l'anticorpo specifico, quando associate ad altre proteine antigeniche. La metodica EIA, di semplice utilizzazione manuale o eventualmente automatizzabile, è ancora il test più diffuso. Riteniamo comunque opportuno, alla luce dei risultati ottenuti, che un risultato del test EIA di screening negativo non è sufficiente per escludere con certezza l'infezione da *Helicobacter pylori*, ma vada confermata con ulteriori indagini diagnostiche (WB, ricerca antigene *Hp* fecale, esame colturale, etc.).

M007

VALUTAZIONE MICROBIOLOGICA DI PAZIENTI AFFETTI DA OTITI ESTERNE E OTITI CRONICHE MEDIE.

Tresca E.; Ridolfi D.; Della Pelle C.;*Szimanski M.

Laboratorio Analisi Chimico Cliniche e Microbiologia P.O.
"S. Massimo" Penne (PE) (Direttore Dr. E. Tresca)*
U.O. Otorinolaringoiatria P.O. "S. Massimo" Penne
(Direttore U.O. Dr. V. Rapino)

Le otiti esterne e le otiti croniche medie sono patologie infiammatorie dell'orecchio caratterizzate clinicamente da prurito, otalgia e modica otorrea purulenta. Se non curate, in individui defedati o in diabetici, possono portare a complicanze come osteocondrite con paralisi del nervo facciale. A causa della sintomatologia clinica molte volte è prescritta una terapia empirica che non sempre è risolutiva. Infatti, spesso sono segnalati, per i germi responsabili, profili di antibiotico-resistenza variabili anche in ambito locale. Un corretto approccio al problema consiglia l'esecuzione dell'esame batteriologico, del secreto auricolare, mediante tampone auricolare, e successivo antibiogramma.

Materiali e metodi: Nel periodo 01/01/2000-15/05/2003 sono stati processati 287 tamponi auricolari provenienti prevalentemente da pazienti ambulatoriali esterni (246). I tamponi sono stati seminati sui terreni agar Sangue, Cioccolato, MSA, McConkey, Sabouraud. L'esecuzione delle prove di identificazione biochimica dei batteri e il rilevamento dei profili di sensibilità ai farmaci antibatterici è stata effettuata utilizzando il sistema automatico (Vitek BioMerieux). Per i

miceti, dopo coltura su terreno Sabouraud, si è proceduto all'identificazione dei lieviti utilizzando le cards YBC (Vitek) e per i miceti filamentosi all'identificazione morfologica mediante microscopia ottica.

Risultati: Dei 287 tamponi auricolari 233/287 (81%) sono risultati positivi, mentre 54/287 (19%) sono stati considerati negativi poiché avevano presentato assenza o limitato sviluppo di flora batterica residente.

I campioni positivi 172/233 (74%) erano sostenuti da ceppi batterici, mentre 61/233 (26%) da ceppi di natura micotica. Nel 50% dei casi, le infezioni micotiche erano associate a infezioni batteriche. I germi più frequentemente isolati sono stati *Staphylococcus aureus* (39,3%) *Pseudomonas spp.* (33,6%), *Staphylococcus coag.neg.* (10,3%) *Klebsiella pneumoniae/Enterobacter spp.* (3,4%), *Proteus spp/Serratia spp.* (2,3%), *Streptococcus pneumoniae* (2,8%), *Haemophilus spp.* (1,7%). I miceti isolati 61/233 (26%) sono stati classificati come appartenenti al genere *Aspergillus* (15,8%) e *Candida* (10,2%). Sugli stipiti batterici sono stati eseguiti gli antibiogrammi e riportate le percentuali di sensibilità ai farmaci testati.

Conclusioni: L'alta frequenza di isolamento di miceti (26%) e la presenza di ceppi batterici con particolare profilo di antibiotico-resistenza, sottolinea l'importanza che, il trattamento di tali patologie, è bene sia affrontato con opportune cautele e in stretta collaborazione tra clinico e microbiologo così da poter attuare protocolli terapeutici mirati.

M008

ASSORBENTI IGIENICI: SINTOMATOLOGIA ED ISOLAMENTI MICROBIOLOGICI

Audisio G., Amarù G., D'Avolio A., Orso Giaccone G., Properzi C.

ASL 5, Laboratorio Analisi, Via Oberdan 10, 10093 Collegno (TO)

Prima dell'esame, alle pazienti afferenti all'ambulatorio di batteriologia vaginale del Laboratorio Analisi di Collegno - ASL 5 del Piemonte, è stato chiesto che tipo di assorbente usassero abitualmente. Col presente lavoro vengono riportate le osservazioni ricavate dall'elaborazione dei dati anamnestici e dalle correlazioni microbiologiche. Delle 1434 pazienti, il 79,2% ha dichiarato di utilizzare abitualmente assorbenti esterni, l'8,2% gli interni e il 12,6% entrambi. Non si riscontrano nell'uso differenze significative tra le popolazioni, considerando le varie fasce di età, l'uso o meno di anticoncezionali e l'età del primo rapporto. Differenze significative si riscontrano invece se si confrontano la scolarità (prevalenza di utilizzo di assorbenti interni nelle pazienti con titolo di studio diploma-laurea), il numero di partner complessivi, e il numero di rapporti settimanali dichiarati, maggiore nella popolazione di donne che utilizzano assorbenti interni. Tali differenze possono essere, a nostro avviso, uno degli indici che evidenziano le diversità culturali e socio economiche delle popolazioni esaminate.

Considerando la sintomatologia si dichiarano, in maniera statisticamente significativa, complessivamente più sintomatiche le pazienti che utilizzano gli assorbenti esterni (56,1%) rispetto alle altre (45,8 %); non si rilevano invece, rispetto alle singole voci (prurito, bruciore, leucorrea), differenze significative, eccetto che per la dispareunia, maggiormente dichiarata da chi fa uso di assorbenti interni.

Relativamente agli isolati, pur essendosi evidenziate delle differenze percentuali di isolamento nelle popolazioni (*Candida spp.* 14,4% int. - 17,7% est., *Gardnerella v.* 11,0%

int. - 7,6% est., opportunisti 3,4% int. - 4,2% est., micoplasmi 28,8% int. - 23,1% est.), queste non sono risultate statisticamente significative.

M009

EFFETTO DI ANTIBIOTICI IN CONCENTRAZIONI SUBINIBITORIE SULLA FORMAZIONE DI BIOFILM IN ENTEROCOCCUS FAECALIS

Ammendolia M.G., Peca D., Bertuccini L., Di Rosa R., Baldassarri L.

Dipartimento Tecnologie e Salute, Istituto Superiore di Sanità, Viale Regina Elena 299, 00161 Roma

Recentemente è stato evidenziato come fattori stressogeni, quali modificazioni delle condizioni culturali, siano in grado di stimolare la produzione di biofilm da parte di *Enterococcus faecalis*. In questo studio abbiamo esaminato, come possibile fattore di stress, l'effetto di concentrazioni subMIC di vancomicina, teicoplanina e linezolid sulla formazione di biofilm in *E. faecalis*. Sono stati esaminati 6 isolati clinici produttori di biofilm, per i quali sono state determinate le MIC dei tre antibiotici secondo le indicazioni del NCCLS; la formazione di biofilm è stata valutata quantitativamente mediante saggio su piastrina dopo crescita in due diversi terreni (MH e TSB supplementato con 1% glucosio), in assenza di antibiotico o in presenza di concentrazioni 1/2, 1/4, 1/8 ed 1/16 della MIC.

Come atteso, la produzione di biofilm risultava significativamente aumentata in terreno contenente glucosio, sebbene 5 ceppi su 6 risultassero comunque biofilm-produttori. Tale produzione di biofilm era comunque scarsa in assenza di glucosio e non risentiva significativamente della presenza di antibiotici a tutte le concentrazioni testate; viceversa, in terreno contenente glucosio, il linezolid a 1/2 della MIC inibiva significativamente la formazione di biofilm in 5 isolati, pur lasciando inalterato il tasso di crescita; la capacità di formare biofilm aumentava in maniera inversamente proporzionale alla concentrazione di antibiotico nel mezzo. La teicoplanina inibiva significativamente la produzione di biofilm in tre ceppi mentre la vancomicina risultava avere un effetto inibente su due isolati; in un terzo ceppo incrementava invece la formazione di biofilm del 300%.

Come noto, la produzione di biofilm conferisce ai batteri produttori una resistenza "meccanica" ad antibiotici cui sarebbero altrimenti sensibili; risulta pertanto importante estendere questo studio a un maggior numero di isolati clinici allo scopo di verificare se l'inibizione della produzione di biofilm rappresenti l'effetto prevalente di concentrazioni subMIC di antibiotici.

M010

SCREENING PRENATALE PER STREPTOCOCCUS AGALACTIAE: DATI RACCOLTI NEL PERIODO SETTEMBRE 2002 - APRILE 2003

Genco R., Giannobile G., Puccio G., Turchio B., Verro M., La Chiusa S.

U.O.C. Patologia Clinica, Ospedale Buccheri La Ferla FBF Palermo

Premessa Lo *S. agalactiae* è responsabile in epoca neonatale di infezioni batteriche a trasmissione verticale potenzialmente mortali. L'infezione precoce può essere trasmessa al neonato per via transplacentare o durante il passaggio attraverso il canale del parto. In relazione all'accumularsi di "evidenze" degli ultimi anni il trattamento antibiotico intrapartum di tutte le gravide colonizzate, sembra essere l'approccio più efficace per la prevenzione delle infezioni precoci da GBS. Scopo dello studio è quindi l'estensione dell'accertamento batteriologico a tutte le gravide che afferiscono ai nostri ambulatori di diagnostica prenatale, la valutazione dei dati riguardanti la percentuale di colonizzazione e lo spettro di resistenza dei ceppi isolati.

Metodi e materiali: il protocollo prevede l'esecuzione del tampone vaginale e rettale in 35-37 settimana di gestazione (il prelievo in ambedue le sedi assicura il maggior valore predittivo di colonizzazione vaginale al momento del parto), suggerisce accurate modalità di prelievo dei campioni batteriologici (sede ottimale per il prelievo è il terzo inferiore della vagina e la parte inferiore del retto) attiva il controllo della batteriuria sintomatica o asintomatica da GBS. Tecniche culturali: arricchimento in brodo Todd-Hewitt addizionato con 10 µg/ml di colistina e 15 µg/ml di ac.nalidixico, incubazione 18-24 ore, subcultura in agar sangue montone (Biomérieux) Identificazione presuntiva col CAMP test, tipizzazione sierologia con antisieri specifici (BD), antibiogramma col metodo di microdiluzione in brodo ai breakpoint NCCLS 2002 (Vitek 2).

Risultati Sono state scrinate da settembre 2002 ad aprile 2003, 1028 gravide, sono stati isolati 161 ceppi di GBS, le donne colonizzate sono risultate essere il 15.9%. Il 100% dei ceppi isolati sono risultati sensibili ad ampicillina, Penicillina G e vancomicina. Il 20% ed il 18% dei ceppi risultano rispettivamente resistenti a clindamicina ed eritromicina. La percentuale di colonizzazione delle gravide del nostro bacino è in linea con i dati della letteratura (dal 10 al 40% secondo le diverse realtà), piuttosto alta invece la percentuale di ceppi resistenti ad eritromicina e clindamicina dato preoccupante in quanto farmaci di scelta nelle donne con alto rischio di anafilassi per penicillina.

Conclusioni: Lo screening batteriologico ha permesso di limitare il trattamento antibiotico alle gravide colonizzate diminuendo il rischio di anafilassi e l'insorgere di nuove resistenze.

M011

STUDIO POLICENTRICO PER LA VALUTAZIONE DI BCSA, TERRENO SELETTIVO PER BURKHOLDERIA CEPACIA COMPLEX, VERSUS OFPBL

Garlaschi ML *, Cariani L. *, Busetti M.**, Grasso E. ^, Grassi P. ^, Belli ML. ^^ e Manno G. ^^

Garofolo, Trieste; ^ Po *Istituti Clinici di Perfezionamento, Milano; ** Burlo Icl. Univ., Catania; ^^ Istituto G.Gaslini, Genova

Introduzione *Burkholderia cepacia* Complex, importante patogeno delle vie aeree di pazienti con Fibrosi Cistica (FC), non è di facile isolamento, né di facile identificazione. L'isolamento dall'espettorato di un paziente con FC, di un ceppo di *B. cepacia*, impone al clinico un comportamento di particolare attenzione verso i pazienti colonizzati, sia terapeutico per la particolare patogenicità, che di segregazione per l'elevata trasmissibilità.

Materiali e metodi Abbiamo condotto, in quattro laboratori di microbiologia (Ist.Clin. Perf., Milano; Ist. G. Gaslini, Genova; IRCCS, Burlo Garofolo, Trieste; Policl. Univ., Catania), uno studio comparativo prospettico per valutare due terreni selettivi per *B. cepacia* Complex, il BCSA, fornito dalla bioMérieux, Italia, e l' OFPBL, fornito dalla Becton Dickinson Italia. Sono stati processati, dal 15/02/2002 al 15/06/2002, 901 campioni provenienti dalle basse vie aeree di 783 pazienti con FC. I due terreni in prova sono stati inseriti nella routine giornaliera. I batteri Gram negativi cresciuti su OFPBL e BCSA sono stati identificati mediante il sistema in uso presso il proprio laboratorio e successivamente riconfermati mediante il metodo API 20 NE bioMérieux. L'identificazione di *B. cepacia* Complex è stata confermata mediante PCR (Agodi JCM 2001 E Bevivino JCM 2002).

Risultati I valori medi, rispettivamente di selettività ed eugonicità dei due terreni valutati, sono stati i seguenti: su BCSA nell'82.1% e su OFPBL nell'11% di casi non è cresciuto alcun microrganismo, diverso da *B. cepacia*; su BCSA nel 98.4% e su OFPBL nel 100% di casi si è evidenziata crescita di *B. cepacia*.

Discussioni e conclusioni I due terreni selettivi valutati hanno evidenziato una simile eugonicità nei confronti di *B. cepacia* Complex, mentre BCSA nei confronti di OFPBL ha dimostrato una migliore selettività in tutti i Centri di valutazione. Possiamo concludere che l'inserimento di BCSA nella serie di terreni utilizzati per la processazione di materiali respiratori di pazienti con FC è auspicabile e di notevole efficacia.

M012

RICERCA DI LEGIONELLA E AMEBA DA CAMPIONI DI ACQUA.

Franzin L., Cabodi D., Bonfrate N.

Sezione Malattie Infettive, Università di Torino, Ospedale "Amedeo di Savoia", Corso Svizzera 164, 10149 Torino.

Obiettivi: Il genere *Legionella* comprende batteri acquatici ubiquitari che vivono in simbiosi con le Amebe. La presenza di questi protozoi nell'ambiente risulta importante per il mantenimento e la propagazione del batterio. Le Amebe inoltre svolgono un ruolo rilevante nei meccanismi di virulenza

del batterio e nella protezione dello stesso in condizioni ambientali avverse. Lo scopo del lavoro è l'isolamento di *Legionella* e di Ameba da campioni di acqua di impianti idrici ospedalieri e da impianti di condizionamento dell'aria.

Metodi: Sono stati esaminati 143 campioni di acqua: 110 acqua calda (5 L) e 25 acqua fredda (5 L) prelevati da 9 ospedali; 8 acqua fredda (1 L) da impianti di condizionamento dell'aria. *Legionella* è stata ricercata con analisi quantitativa mediante metodo di filtrazione (membrane di porosità 0,2 µ). Aliquote del concentrato sono state insemenate su BCYE, BMPA e MWY direttamente e dopo trattamento con acidi e calore. Le colonie sospette cresciute a 37°C sono state isolate e tipizzate con metodi sierologici. Le Amebe sono state ricercate da 100 mL di acqua mediante concentrazione del campione con centrifugazione e successiva semina del sedimento su terreno non nutrient agar con *Escherichia coli* ed incubazione a 25°C.

Risultati: *Legionella* è stata isolata da 82 (61%) campioni di acqua (76 calda e 6 fredda) di 8 (89%) ospedali. Sono state isolate: *L. pneumophila* di sierogruppo 1, 3, 5, 6 e *Legionella* spp. La ricerca di Ameba è risultata positiva in 23 (16%) campioni: 14 acqua calda e 4 acqua fredda di 4 (44%) ospedali; 5 (63%) acqua fredda di condizionatori. La presenza contemporanea di *Legionella* e Ameba è stata riscontrata in 15 (10%) campioni, mentre 8 (6%) campioni, di cui 5 da condizionatori, sono risultati positivi solo per Ameba.

Conclusioni: La presenza di *Legionella* è risultata ubiquitaria negli impianti idrici ospedalieri, mentre Ameba è stata isolata nel 16% dei campioni. La presenza di Amebe anche in assenza di *Legionella* è di particolare interesse poiché il batterio è parassita intracellulare del protozoo, all'interno del quale si moltiplica abbondantemente. La ricolonizzazione dell'impianto idrico può infatti avvenire dall'apporto di *Legionella* veicolate da alcune Amebe. Le interazioni fra questi microrganismi meriterebbero un ulteriore approfondimento.

M013

S. AUREUS ED EPIDERMIDIS NEI REPARTI A RISCHIO, FREQUENZA DI ISOLAMENTO ED ANTIBIOTICO-RESISTENZA.

De Intinis G., Latino M.A., Peretto M., Neve V.

Az. Osp. O.I.R.M./S. Anna C.so Spezia 60 10100 Torino

Introduzione: Gli Stafilococchi sono da sempre noti quali agenti responsabili di infezioni. Quelle da ceppi Oxacillino resistenti presentano serie difficoltà terapeutiche dovute alla estesa resistenza di questi ceppi a molti antibiotici e a complicare ulteriormente la situazione è stata la comparsa di ceppi VISA. Da una revisione della letteratura disponibile, in Italia la resistenza alla Oxacillina in *S. aureus* appare molto alta e sembra mantenersi intorno al 40%, una percentuale tra le più alte in Europa, negli SCN ed in particolare in *S. epidermidis* appare ancora più elevata. Nel confronto con gli altri Paesi Europei, solo il Portogallo e la Grecia riportano una frequenza più elevata di MRSA. Per ora non sono stati rilevati ceppi VISA, ma sarà comunque importante monitorare nel tempo l'andamento delle MIC alla Vancomicina.

Scopo: Abbiamo voluto verificare, ritenendolo utile, la frequenza di isolamento di Stafilococchi in alcuni Reparti a rischio della nostra Az. Ospedaliera e la loro suscettibilità (R/S) verso le molecole testate.

Materiali e metodi: Nel periodo 01/01/2001 - 31/12/2002 solo su Pazienti ricoverati nei reparti a rischio sono stati isolati 331 ceppi di *S. aureus* (173 nel 2001 e 158 nel 2002) e

770 ceppi di *S. epidermidis* (361 nel 2001 e 409 nel 2002) da materiali vari. Le identificazioni e gli antibiogrammi sono stati eseguiti con il sistema Vitek 2.

Risultati: Le % di sensibilità delle due specie batteriche considerate sono rappresentate nella tabella 1. Se si fa eccezione per la sola Penicillina G, i ceppi di *S. aureus* hanno mantenuto elevate % di sensibilità che vanno dal 57% dell'Eritromicina (anno 2001) al 100 % di Teicoplanina e Vancomicina, Soltanto un 5% (anno 2001) ed un 8% (anno 2002) dei ceppi è risultato resistente alla Oxacillina. Per quanto riguarda i ceppi di *S. epidermidis*, invece, questi hanno mostrato, come è logico attendersi, percentuali di sensibilità nettamente inferiori che vanno dal 17% dell'Eritromicina al 100% di Vancomicina. Il 92% (anno 2001) e l'89% (anno 2002) dei ceppi è risultato resistente alla Oxacillina.

Considerazioni: Complessivamente i dati emersi dal nostro studio sono molto rassicuranti per *S. aureus*. Le % di resistenza alla Oxacillina si pongono ben al di sotto di quel 40% che sembra mantenersi in Italia. Anche stratificando il dato per Reparto (vedi tabella 2) quello a più alta % di resistenza risulta essere l'Oncologia con solo 15%. Altrettanto non può dirsi per lo *S. epidermidis*, si passa dal 100% di resistenza nel reparto di Terapia intensiva cardiocirurgica al 71% dell'Oncologia. Particolarmente significativa la situazione nei due nidi patologici, quello ospedaliero con il 98% di resistenza sia nel 2001 che nel 2002 e quello universitario con il 92% nel 2001 ed il 91% nel 2002

M014

ETEROGENEITA' NELLA CAG ISLAND DI HELICOBACTER PYLORI E QUADRI ANATOMO-CLINICI

Sozzi M.*; Tomasini M.L.; Zanussi S.; Tedeschi R.; Basaglia G.; De Paoli P.

S.O.C. di Microbiologia, Immunologia e Virologia - Centro di Riferimento Oncologico, Istituto Nazionale Tumori - IRCCS, Via Pedemontana Occidentale, 12, 33081 Aviano (Pordenone).
* U.O. di Gastroenterologia ed Endoscopia digestiva - Ospedali Riuniti di Trieste.

Introduzione e scopo: L'infezione da *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) causa gastrite cronica ed è associata allo sviluppo di ulcera duodenale e gastrica, adenocarcinoma e MALT linfoma gastrici. Tra i fattori implicati nell'esito clinico dell'infezione vi è la regione genomica "cag Island" più frequente nei ceppi isolati da pazienti con quadri clinici più severi (Sozzi et al., Am J Gastroenterol 1998; 93(3): 375-379) e per la quale esiste eterogeneità genica anche nell'ambito dello stesso ceppo (Tomasini et al., JCM 2003; 41(3): 976-80). Scopo del presente studio è di verificare se esistono differenze nei genotipi *cag* nelle colonie isolate da pazienti con differenti "outcomes" clinici.

Materiali e metodi: In 17 pazienti (5 con ulcera duodenale, 6 con gastrite atrofica e 6 con gastrite non-atrofica) sono stati effettuati prelievi biotici endoscopici (dall'antro e dal corpo gastrico in 11 soggetti, solo da un sito in 6 soggetti) per l'esame istologico della mucosa e per la coltura dell'*H. pylori*. Da ogni coltura primaria sono state isolate 10 colonie per un totale di 280 colonie. Per ogni colonia si è effettuato l'incubamento, l'estrazione del DNA e l'amplificazione di 3 geni della *cag Island*: *cagA*, *cagE*, *virB11* e del gene *glmM* (*ureC*), marker della presenza di genoma di *H. pylori*. In casi selezionati si è verificata l'appartenenza delle colonie ad uno stesso ceppo mediante RAPD-PCR e sequenziamento del-

l'amplificato del gene *glmM*.

Risultati: In 11 pazienti tutte le colonie erano PCR positive per *cagA*, *cagE* e *virB11*, mentre negli altri 6 pazienti mancava l'amplificazione di uno o più geni della *cag* Island in un numero variabile di colonie. In alcuni pazienti, le cui colonie mostravano eterogeneità genica, la RAPD-PCR ed il sequenziamento di *glmM* hanno dimostrato l'identità del ceppo batterico. Le delezioni nella *cag* Island erano presenti in 4 su 6 pazienti con gastrite atrofica, 2 su 6 pazienti con gastrite non-atrofica ed in nessuno dei 5 pazienti con ulcera duodenale.

Conclusioni: Il nostro studio sembra indicare che l'eterogeneità nei genotipi *cag* riscontrata in un gruppo consistente di pazienti infettati da ceppi *cagA+* di *H. pylori* sia associata a determinati quadri anatomico-clinici. La particolare frequenza di delezioni nei pazienti con gastrite atrofica e la loro assenza nei pazienti con ulcera duodenale fa ipotizzare un'influenza del microambiente acido gastrico sulla selezione dei genotipi *cag* nel corso dell'infezione umana.

M015

RICKETTSIOSI DEL GRUPPO "SPOTTED FEVER" CONTRATTA IN SUD AFRICA

Greco F¹, Vallone A², Apuzzo G², Vallone G²,
Guaglianone L², Giraldo C¹.

¹ U.O. Microbiologia e Virologia, Ospedale Annunziata, Cosenza

² U.O. Malattie Infettive, Ospedale Annunziata, Cosenza

Introduzione: L'aumento dei viaggi internazionali e il fenomeno delle migrazioni sta influenzando sempre più la diagnostica clinica e microbiologica del paziente con febbre, tanto da rendere prioritaria l'investigazione su un eventuale viaggio internazionale e sulla circolazione degli agenti infettivi nella corrispondente area geografica. Per queste ragioni ci è sembrato utile descrivere il caso clinico relativo ad una donna di 60 anni, giunta di recente alla nostra osservazione per febbre insorta al ritorno di un viaggio in sud Africa.

Caso Clinico: Nel luglio del 2002 abbiamo osservato una donna di 60 anni con febbre continua da 6 giorni e 5 escare localizzate a livello degli arti superiori e inferiori accompagnate da linfadenopatia regionale. Tuttavia le condizioni generali erano buone, sia al momento della prima visita che nei giorni precedenti, e non si è manifestato esantema. La paziente aveva soggiornato in sud Africa per 20 giorni e i primi sintomi sono comparsi 6 giorni dopo il rientro in Patria. I principali esami ematochimici hanno mostrato una modesta ipertransaminasemia e un moderato incremento della VES. La diagnosi sierologica è stata effettuata mediante un test di immuno fluorescenza indiretta per la ricerca delle IgG ed IgM anti Rickettsia (Focus USA, Alifax). Il test utilizza vetrini contenenti antigeni di *R. typhi* e di *R. rickettsii* che consentono di discriminare, rispettivamente, il gruppo "Typhus Fever" da quello "Spotted Fever", quest'ultimo comprendente anche *R. africae*, *R. akari*, *R. conorii*, *R. australis*, *R. sibirica* e altre. L'infezione verso una di queste specie induce la produzione di anticorpi verso *R. rickettsii*. Il siero in esame mostrava una positività sia per IgG (>1/256) che per IgM (>1/50) verso *R. rickettsii*. La paziente è stata trattata con doxiciclina 100 mg due volte al giorno per 8 giorni ed è guarita non manifestando alcun segno di malattia anche nel follow up fino a 6 mesi. Il quadro clinico, le informazioni epidemiologiche, la risposta al trattamento e il risultato dell'esame siero-immunologico hanno permesso di porre diagnosi di rickettsiosi del gruppo della "Spotted Fever" probabilmente da *Rickettsia africae*. Agente etiologico del Tifo da zecche africano, *Rickettsia africae* è trasmessa

all'uomo dalla puntura di *Amblyomma* spp. ed è considerata emergente in particolare in Africa sub sahariana. E' stato possibile, sul piano clinico, escludere dalla diagnostica differenziale la febbre bottonosa del mediterraneo e su quello clinico epidemiologico considerare per lo meno molto improbabili le altre forme.

Discussione: Il caso clinico da noi descritto è espressione di una realtà ormai attuale che supera la "regionalizzazione" della patologia infettiva e che sollecita fortemente un continuo adeguamento culturale e tecnologico dei clinici e dei laboratori di microbiologia.

M016

ENDOCARDITE DA GEMELLA MORBILLORUM IN UNA BAMBINA: DESCRIZIONE DI UN CASO CLINICO.

Carletti M., Gimigliano F.*, Di Felice G., Toccaceli L.*,
Carducci G., Ballerini L.*

Lab. Analisi OPBG, *DMCCP Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, IRCCS Presidio di Palidoro, Via Torre di Palidoro, 00050 Fiumicino (RM);

Obiettivi: richiamare l'attenzione sulla possibile insorgenza di endocardite acuta in pazienti pediatriche affette da cardiopatie congenite complesse con foci orali. *G. morbillorum*, cocco Gram-positivo, catalasi negativo, anaerobio facoltativo è commensale della flora orale e del tratto gastrointestinale; può causare endocarditi e batteriemie negli adulti, raramente nei pazienti pediatriche.

Materiali e metodi: bambina di 10 anni con cardiopatia congenita, sottoposta ad intervento di coartectomia con anastomosi termino-terminale. Dopo sei mesi compaiono episodi di febbre intermittente, con picchi notturni di 38.5°C. Attraverso ecocardiogramma ed emocoltura si è fatta diagnosi di endocardite da *G. morbillorum* con interessamento della valvola mitralica. Le emocolture sono state eseguite mediante sistema ISOLATOR 1.5 (OXOID); i terreni utilizzati per le subcolture sono stati TSS (Bio-Merieux) e Cioccolato PVX (Bio-Merieux), opportunamente incubato a 37°C in microaerofilia al 5% di CO₂; l'identificazione batterica, effettuata con sistema Vitek, card GPI (Bio-Merieux), ha dato come risultato *G. morbillorum*. L'antibiogramma, effettuato mediante Kirby-Bauer evidenziava una buona sensibilità alla Vancomicina e Gentamicina.

Risultati: dopo la diagnosi di endocardite batterica da *G. morbillorum*, si è iniziata una terapia antibiotica con vancomicina (12 mg/Kg per 3 volte al dì) e gentamicina (2mg/Kg/die). Al terzo giorno di terapia scompariva la febbre e al settimo giorno si evidenziava la riduzione di volume della vegetazione endocardica. Dopo venti giorni di terapia e controlli ripetuti per la conferma della negativizzazione delle emocolture e degli indici di flogosi, la bambina è stata dimessa in buone condizioni. La ricerca del possibile focolaio di provenienza dell'infezione ha dimostrato, alla visita odontoiatrica, la presenza di processi cariosi a carico di più elementi dentali.

Conclusioni: l'endocardite infettiva è una condizione devastante e spesso fatale, soprattutto nei soggetti a rischio per vizi valvolari congeniti o acquisiti. Per questo in tali soggetti è necessario, valutare l'appropriatezza di cicli preventivi di terapia antibiotica e bonifica odontoiatrica.

M017**EPIDEMIOLOGIA DELLE BATTERIEMIE IN UN OSPEDALE GENERALE DI ZONA**

Pirali F., Marini M., Ghidini R.

Laboratorio di Patologia Clinica
Ospedale S. Orsola Fatebenefratelli Via V. Emanuele II, 27 Brescia

Vengono presentati i dati epidemiologici derivati dalle emocolture effettuate nello anno 2002 nell'ospedale S. Orsola Fatebenefratelli di Brescia, un ospedale generale di zona con circa 350 posti letto, correlandoli con le modalità di richiesta, i reparti di provenienza, la diagnosi di base dei pazienti, le differenti terapie antibiotiche in atto. Sono risultati così sorvegliati 12.923 pazienti in 338 dei quali sono state richieste, nel corso dell'anno 2002, 417 emocolture (336 sia aerobie che anaerobie; 81 solo aerobie), pari ad una percentuale di richieste pari al 32 per 1000 ricoverati. Le emocolture sono state effettuate con il sistema BACTEC della ditta Becton Dickinson ed i pazienti con emocoltura positiva sono risultati 67, con una incidenza sul totale dei pazienti sorvegliati dello 0,51%. mentre le emocolture positive sono state 75 con una percentuale di positività rispetto alle richieste del 18%. I microrganismi isolati (ad esclusione dei casi con isolamenti ripetuti dello stesso germe nello stesso paziente) sono risultati 70: 37 Gram positivi (52,8%) e 33 Gram negativi (47,2%) con le specie più frequentemente isolate costituite da: *Escherichia coli* 31,4%, *Staphylococcus aureus* 10%, *Staphylococcus epidermidis* 10%, *Enterococcus faecalis* D 5,7%, *Streptococcus agalactiae* B 5,7%, *Enterococcus faecium* D 4,3%. Le percentuali di emocolture richieste rispetto al numero dei pazienti ricoverati e le relative percentuali di positività sono risultate del 90 per mille pazienti con il 16,5% di positività per la geriatria, del 43 per mille con il 9,5 % di positività per la medicina riabilitativa, del 43,2 per mille con il 17% di positività per la gastroenterologia, del 38,7 per mille con il 2,3% di positività per la pediatria, del 33,8 per mille con il 15,7% di positività per la medicina generale, del 21,8 per mille senza positività per la cardiologia, dell'8,4 per mille con il 76% di positività per la chirurgia generale, dell'1 per mille senza positività per la ginecologia. Le maggiori percentuali di isolamenti batterici rispetto alle emocolture richieste si sono riscontrate in casi di pazienti con diagnosi di base di cirrosi (50%), carcinosi (42%), enterocolite (40%), mentre nel corso di polmoniti le percentuali delle emocolture positive rispetto a quelle inviate sono state del 5,8%. Gli invii di emocolture in corso di trattamento antibiotico sono risultati 146 su 417 corrispondenti al 35%; di questi ultimi poi 48 emocolture provenivano da pazienti in poliantibiotico-terapia. Gli antibiotici più frequentemente utilizzati sono stati: cefalosporine: 31,5%, chinoloni: 29%, penicilline: 21,2%, carbapenemici: 4,7%, macrolidi: 2,5%, aminoglicosidi: 2%, glicopeptidi: 2%, imidazolici: 2%, altri: 5,1%. L'analisi fatta consente di fare alcune considerazioni: rispetto alle linee guida suggerite, la richiesta di emocoltura per paziente è molto frequentemente unica, pur comprendendo sia flacone per aerobi che per anaerobi, per cui non è agevole distinguere le batteriemi transitorie e/o le possibili contaminazioni, inoltre in più di un terzo dei casi l'invio dell'emocoltura viene effettuato a terapia antibiotica iniziata, nonostante ciò, l'elevato indice di positività riscontrato indicherebbe una estrema selezione clinica del paziente da sottoporre all'indagine ed un grande sforzo di contenimento delle spese sanitarie. Il relativamente basso numero di verosimili contaminazioni (isolamento di *Staphylococcus epidermidis*) sottolinea infine una grande accuratezza nelle modalità di prelievo.

M018**VALUTAZIONE COMPARATIVA DI UN SISTEMA AUTOMATICO PER IDENTIFICAZIONE E ANTIBIOGRAMMA**

Ravotto M., Serra R., Marchiaro G.

SC Microbiologia, A.O. S.G. Battista - Torino

Vitek 2 (bioMérieux) è un sistema totalmente automatizzato per identificazione e antibiogramma di batteri e lieviti. I batteri sono identificati mediante apposite card entro poche ore, mentre la determinazione rapida delle MIC si basa sull'analisi della crescita cinetica di ogni combinazione ceppo/antibiotico. 204 ceppi (102 Gram positivi e 102 Gram negativi) isolati dalla routine sono stati identificati con Vitek 2 e un sistema di identificazione overnight (Microscan Dade Behring), mentre le discordanze sono state risolte con il sistema Api 32. Le performance di Vitek 2, classificate in 4 categorie (identificazione corretta; bassa discriminazione, nel caso di più specie proposte da Vitek 2 di cui una coincidente con il metodo di riferimento; mancata identificazione; identificazione errata) sono risultate nel complesso di ottimo livello (vedi tabella)

	Ident. corretta	Bassa discrimin.	Ident. mancata	Ident. errata
Gram pos	94.11%	0.98%	0.98%	3.92%
Gram neg	98.50%	0.98%	1.96%	-
Totale	95.59%	0.98%	1.47%	1.96%

Da segnalare che, per *S. pneumoniae*, l'incremento della concentrazione dell'inoculo (a 1 McFarland) migliora sensibilmente i risultati dell'identificazione entro 2 ore, senza pregiudicare l'affidabilità dei test di sensibilità.

Per la valutazione delle performances degli antibiogrammi i medesimi ceppi sono stati saggiati con gli stessi sistemi, risolvendo le discordanze con E test ed esprimendo i risultati nelle 3 categorie convenzionali (E, ME, VME). Stafilococchi: 100% di concordanza del saggio n.c. di oxacillina, VME assenti, parziale sovrastima della resistenza alla teicoplanina (E=14,6%). Enterococchi: concordanze intorno al 100%, non ME, 5,4% di VME n.c. dei fluorochinoloni. Pneumococchi: livello di concordanza mediamente superiore a 90%; 10% di ME n.c. dell'ampicillina. Enterobatteri: performances soddisfacenti, con identificazione corretta dei ceppi produttori di ESBL, grazie anche all'intervento del sistema esperto di cui è dotato Vitek 2, che ha, in qualche caso, "interpretato" correttamente i risultati analitici modificandoli. Paeruginosa: prestazioni nel complesso soddisfacenti, ME assenti, 5% di VME n.c. di Piperacillina/tazobactam.

M019**STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE: STUDIO DELL'ANTIBIOTICO RESISTENZA IN STIPITI ISOLATI DA TAMPONI NASALI.**

Bandettini R., Pescetto L., Lualdi S., Peri C., Barretta M.A.

Laboratorio Analisi chimico-cliniche e Microbiologia -
Istituto Giannina Gaslini, Genova.**Introduzione:**

Negli ultimi anni è stato registrato un allarmante aumento di stipiti di *Streptococcus pneumoniae* resistenti ai beta-lattamici e ai macrolidi. Lo scopo del nostro lavoro è stato quello di

valutare tali resistenze in ceppi isolati da tamponi nasali di pazienti in età pediatrica ricoverati in reparti dell'Istituto o afferenti agli ambulatori.

Materiali e metodi:

In un periodo di tempo compreso tra gennaio e aprile 2003 abbiamo studiato la suscettibilità di 76 ceppi di *Streptococcus pneumoniae* verso la penicillina e i macrolidi a 14 e a 16 atomi (rispettivamente eritromicina e rokitamicina) isolati da altrettanti tamponi nasali di pazienti pediatrici. L'identificazione dei ceppi è stata confermata mediante la sensibilità all'optochina e con il sistema Vitek. Tutti i ceppi sono stati sottoposti ad antibiogramma con metodo Kirby Bauer su piastre Muller-Hinton agar con 5% di sangue di montone. Contemporaneamente sono stati valutati anche i fenotipi di resistenza ai macrolidi apponendo un dischetto di clindamicina a circa 2 cm. da uno di eritromicina.

Risultati:

Dei 76 ceppi studiati 17 (22,4%) sono risultati resistenti alla penicillina, 48 (63,2%) resistenti all'eritromicina, 7 (9,2%) resistenti alla rokitamicina e 34 (44,8%) resistenti alla clindamicina.

Dei 48 ceppi eritromicina-resistenti 34 (70,8%) appartengono al fenotipo costitutivo, 13 (27,1%) al fenotipo M e 1 (2,1%) al fenotipo inducibile.

Discussione:

Dall'analisi del nostro studio si evince che a differenza dei dati riportati in letteratura si ha un incremento della resistenza sia verso la penicillina che verso i macrolidi. Questa refrattarietà coinvolge uno dei più importanti patogeni del tratto respiratorio per cui è senza dubbio necessario da un lato un continuo monitoraggio delle resistenze dall'altro un più attento uso degli antibiotici.

M020

DESCRIZIONE DI UN CASO DI MENINGITE CAUSATA DA SALMONELLA DI GRUPPO D.

Fazii P.¹, Santilli E.², Pelatti A.¹, Stella M.¹, Crescenzi C.¹, Pistola F.¹, Gattone M.C.¹, Visci G.², De Cono P.¹, Riario Sforza G.¹

¹Pediatria Medica/Laboratorio di Analisi Chimico-cliniche e Microbiologia,

²Divisione di a P.O. "Spirito Santo", Via Fonte Romana, 8, 65124 Pescara

Le salmonelle cosiddette "minori", solitamente causano enteriti di varia espressività clinica, anche se, talora, in seguito ad episodi di batteriemia, possono determinare forme cliniche più impegnative come polmoniti, endocarditi, meningiti ecc. La meningite da *Salmonella* è un evento insolito anche se si presenta con una relativa frequenza nella primissima infanzia. Descriviamo il caso di una meningite da *Salmonella* pervenuto alla nostra osservazione nel dicembre 2002. Si è trattato di un bambino di 6 mesi che fu ricoverato presso la Divisione di Pediatria del nostro nosocomio per febbre, pallore cutaneo e stato di torpore; la fontanella si presentava pulsatile. L'esame chimico del LCR denotava la presenza di proteine pari a 467 mg/dL con reazione di Pandy positiva, mentre il glucosio non era dosabile; erano presenti 480 leucociti/mm³, prevalentemente PMN. All'esame batterioscopico furono osservati numerosi bacilli Gram negativi, mentre le prove biochimiche, effettuate sulle colonie sviluppatesi all'esame culturale, permisero l'identificazione di una specie batterica appartenente al genere *Salmonella*. Le prove di agglutinazione con antisiero risultarono positive per il gruppo D (la sierotipizzazione è in corso). La sierodia-

gnosi di Widal risultò negativa. Il bambino fu trattato con ceftriaxone associato a netilmicina. Le condizioni cliniche migliorarono drasticamente ed il piccolo paziente, ai controlli pediatrici successivi, non ha dimostrato alcun ritardo psico-motorio. Segnaliamo il caso testé descritto per la relativa rarità della presentazione clinica.

M021

INFEZIONI URINARIE NEL BAMBINO

Podda R., Porcu P.P., Sanna M.

Laboratorio Analisi Chimico Cliniche e Microbiologia - Ospedale Oncologico "A. Businco" - Cagliari

Questo studio si prefigge lo scopo di valutare l'incidenza e il tipo di infezioni riscontrate sulle urinocolture di bambini con sospetta infezione delle vie urinarie (I.V.U.), esaminate nel corso dell'anno 2002.

Materiali e metodi.

Per la valutazione sono state considerate le urinocolture di pazienti con età inferiore ai 12 anni. Tutti i campioni, in totale 2107, sono stati processati col sistema Linearcount della Microbiol, che consiste in una struttura plastica trasparente suddivisa in 5 scomparti in ognuno dei quali è stratificato un diverso terreno di coltura: Cled, Mac Conkey, Sabouraud, MSA, Enterococco Agar. Questo sistema consente di valutare la presenza di crescita microbica, di discernere tra gram negativi, stafilococchi, streptococchi e miceti, e, grazie ad una apposita scala graduata stampata sul bordo, di quantificare la carica microbica dei campioni risultati positivi.

Risultati

Sui 2107 campioni esaminati, 1671 pari al 79,3% sono risultati negativi. I campioni risultati positivi sono stati 436 (20,7%) così suddivisi: 391 gram negativi (90%), 40 gram positivi (9%) e 5 miceti (1%).

Tra i gram negativi i microrganismi più frequentemente identificati sono stati *E. coli* (214 casi), *Proteus mirabilis* (67), *K. pneumoniae* (33), *Ps. aeruginosa* (31), *Morganella morganii* (20).

Tra i gram positivi è stata riscontrata in 17 casi la presenza di *E. faecalis*, in 8 casi di altri streptococchi del gruppo D, e in 7 casi di *St. aureo*.

Tra i miceti è stata identificata in 5 casi *Candida albicans*.

Conclusioni

Dai dati esposti si evince che nelle urinocolture del bambino con sospetta IVU si riscontrano:

- un numero molto elevato di campioni positivi;
- una elevata percentuale tra i gram negativi oltre che di *E.coli*, di *Proteus mirabilis*;
- una bassa incidenza rispetto alla popolazione adulta di gram positivi e di miceti

M022

APPLICAZIONE DELLA REAL-TIME PCR ALL'IDENTIFICAZIONE DI *CAMPYLOBACTER JEJUNI* CIPROFLOXACINA RESISTENTI.

Dionisi A.M., Carattoli A., Luzzi I.

Istituto Superiore di Sanità, Roma.

L'emergenza di ceppi di *Campylobacter* resistenti ai fluorochinoloni in Europa e negli Stati Uniti, associata temporalmente con l'uso di questi farmaci nella pratica veterinaria, sta rappresentando un serio problema di sanità pubblica connesso con le infezioni umane sostenute da questo microrganismo. Sia i ceppi clinici che quelli isolati dal serbatoio animale e dagli alimenti carni presentano percentuali simili di resistenza ai fluorochinoloni. In Italia, il 38% dei ceppi clinici di *C. jejuni* ed il 55% dei *C. coli*, sono risultati resistenti alla ciprofloxacina. Le percentuali sono ancora più alte in ceppi di origine animale. La resistenza alla ciprofloxacina (MIC ≥ 32 µg/ml) è associata alla presenza di una mutazione sul gene codificante per la subunità A dell'enzima DNA girasi (codone 86 in *Campylobacter*). Lo scopo di questo studio è stato quello di mettere a punto un sistema di identificazione di ceppi di *C. jejuni* ciprofloxacina-resistenti mediante l'uso della tecnologia FRET (Fluorescence Resonance Energy Transfer) applicata alla PCR in tempo reale (Real-Time PCR) da affiancare ad altre tecniche molecolari (PCR e sequenziamento) e classiche (agar-diffusione e MIC). Sono stati esaminati 23 ceppi di *C. jejuni* isolati nell'area del Triveneto durante il 2000 da casi clinici, da animali da reddito e da alimenti carni. I risultati ottenuti hanno mostrato una concordanza del 100% tra la nostra tecnica e le tecniche classiche; la tecnologia FRET discrimina perfettamente i ceppi sensibili dai resistenti; inoltre ha permesso di individuare mutazioni diverse non associate alla resistenza. Questo saggio permette uno screening rapido e riproducibile di isolati di *C. jejuni* in relazione alla ciprofloxacina resistenza. Inoltre permette una caratterizzazione molecolare di isolati correlati spazialmente e temporalmente e una valutazione, in tempi brevi, dell'entità dell'antibiotico resistenza nonché il suo andamento in ceppi isolati da fonti diverse.

M23

STREPTOCOCCUS PYOGENES: RESISTENZA IN VITRO A ERITROMICINA, CLARITROMICINA, ROKITAMICINA.

Cava M.C., Bonanno C.L., De Sandro M.V., Lauri S., Tuccinardi C., Spanò A.

Servizio di Microbiologia e Virologia - Ospedale S. Pertini, via dei Monti Tiburtini 385- 00157 - Roma A.S.L. Rm B

Premessa: *Streptococcus pyogenes* è responsabile della maggior parte delle faringotonsilliti batteriche acute, che richiedono terapia antibiotica appropriata.

Dati epidemiologici del nostro laboratorio, in accordo con i numerosi dati bibliografici, documentano rispetto al decennio precedente, una diminuita suscettibilità in vitro di *S. pyogenes* nei confronti di eritromicina, macrolide ampiamente prescritto da pediatri e medici di famiglia anche per la sua buona tollerabilità.

Obiettivo: Lo studio si propone di analizzare la resistenza in vitro di ceppi consecutivi di *S. pyogenes* nei confronti di

macrolidi quali eritromicina, claritromicina, rokitamicina.

Materiali e metodi: Nel 1° trimestre 2003 sono stati isolati 71 ceppi consecutivi di *S. pyogenes* da tampone faringeo di pazienti out-come, di età compresa tra 2 e 69 anni. E' stato eseguito il saggio di sensibilità agli antibiotici utilizzando dischetti di eritromicina (15mcg), claritromicina (15mcg) e rokitamicina (30mcg) secondo il metodo di Kirby-Bauer. Gli aloni di inibizione ottenuti sono stati interpretati secondo i parametri NCCLS.

Risultati: sono risultati resistenti 29/71 ceppi (40.8%) a eritromicina, 25/71 (35.2%) resistenti a claritromicina e 10/71 (14%) a rokitamicina.

Sommando ai ceppi resistenti quelli a resistenza intermedia abbiamo ottenuto una non suscettibilità in vitro pari al 52.1% per la molecola di eritromicina, al 40.8% per la molecola di claritromicina, 18.2% per la rokitamicina. Quattro (4) ceppi eritromicina "resistenti" hanno dato un alone di inibizione per claritromicina pari a 19 mm interpretati come "intermedi" secondo i parametri NCCLS.

Conclusioni: Dai risultati ottenuti accanto all'aumento di resistenza in vitro nei confronti di eritromicina si rileva una resistenza di *S. pyogenes* a tutti i macrolidi saggiati solo nel 14% (10/71) dei ceppi, da ricondurre ad un meccanismo di resistenza costitutiva, mentre nel restante 26.7% (19/71) sono probabilmente implicati differenti meccanismi di resistenza. Pertanto si ritiene che l'antibiogramma assuma un importante valore predittivo positivo per l'uso in vivo dei macrolidi.

Key words: *S.pyogenes*, resistenza, macrolidi

M024

SENSIBILITÀ ANTIMICROBICA DI ISOLATI DA EMOCOLTURA IN PAZIENTI OSPEDALIZZATI: INCIDENZA E TREND NEL PERIODO 2000-2002

'Venturelli C., ' Bignardi E., 'Rumpianesi F.

'Servizio di Microbiologia, Azienda Ospedaliera Policlinico, Via del Pozzo 71, 41100 Modena

Obiettivo: Valutare il trend di sensibilità antibiotica dei ceppi batterici isolati dalle emocolture di pazienti ospedalizzati in relazione al reparto, dal 2000 al 2002.

Materiali e Metodi: L'analisi retrospettiva è stata condotta sulle emocolture pervenute al Laboratorio di Microbiologia del Policlinico di Modena dal gennaio 2000 al dicembre 2002. Le emocolture sono state eseguite secondo le modalità e le condizioni indicate nel protocollo concordato con i clinici e incubate nel sistema automatico Bactec 9120 (Becton Dickinson). L'identificazione e l'antibiogramma sono stati eseguiti con metodo automatico Vitek 1 (nel 2000), Vitek 2 (dal 2001) e con metodo manuale Biomerieux.

Risultati: Nel triennio 2000-2002 i flaconi processati sono stati rispettivamente 18949 per il vial aerobio e 16910 per il vial anaerobio, con un incremento complessivo del 42,8% determinato dai pazienti oncologici (+115%) e dalla nuova casistica del Centro trapianti di fegato-intestino. La richiesta media di emocolture è distribuita nel modo seguente: 18,6% Malattie Infettive, 19,2 % Medicine, 17,5 Centro Oncologico, 11,4% Rianimazione/Terapia Intensiva, 8,5% trapianti fegato-intestino, 6,1% Nefrologia-Dialisi-Urologia, 5,8% Reparti Chirurgici, 5,6% Reparti Pediatrici e 2,2% Malattie apparato respiratorio. La percentuale media di flaconi positivi è stata del 12%. Gli Stafilococchi sono stati la classe prevalentemente isolata (53%, 51%, 56%), *Staphylococcus aureus* (11%, 9%, 10%), *Enterobacteriaceae*

(20%,20%,15%), altri gram-negativi (11%,11%,8%), Streptococchi (5%,4%,5%), Enterococchi (4%,5%,5%), Anaerobi (3%, 2% 4%), Miceti (2%,4%,3%). La meticillino-resistenza degli Stafilococchi coag.neg. si è mantenuta costante nei tre anni con un valore medio del 65%, ma con differenze significative (da 100% a 62%) a seconda del reparto, mentre anche per *Staphylococcus aureus* notevoli differenze si sono avute a seconda del reparto (da 0% al 70%). Nel 14,6% delle *Enterobacteriaceae* si è rilevata la potenziale produzione di ESBL. La resistenza alla ciprofloxacina è decrementata del 23%, mentre la sensibilità di *Pseudomonas aeruginosa* ad amikacina, ceftazidime, meropenem è complessivamente variata da +8%, -16%, -12% con andamenti differenti per reparto, come nel caso degli isolamenti da pazienti oncologici: -11%, -14% ,+10%. Nel 2003 si è avuto il primo caso di *Enterococcus faecium* resistente ai glicopeptidi.

Conclusioni: Le diverse percentuali di resistenza per anno di studio e le differenti percentuali di sensibilità riscontrate in relazione ai reparti, evidenziano la necessità di monitorare il trend delle resistenze mediante programmi informatici che permettano di migliorare la elaborazione dei dati (di laboratorio e clinici), indispensabile supporto per un uso razionale degli antibiotici.

Venturelli.c@policlinico.mo.it

M025

UTILIZZO DEL TEST NOW S.PNEUMONIA E URINARY ANTIGEN IN ETÀ PEDIATRICA

Vigano' E.F., Terrenghi L., Vasconi E., Clerici P., Savarino A.*, Zuccotti G.V.*

U.O.Microbiologia, *U.O.Pediatria, A.O.
"Ospedale Civile di Legnano" - Legnano (MI)

Introduzione - la letteratura non è concorde riguardo alla utilità clinica della ricerca urinaria di antigene di *S.pneumoniae* in bambini con infezioni delle basse vie respiratorie: sono riportate specificità del 93 % da alcuni (1) e frequenti false positività in bambini portatori e sani da altri. Appare pertanto necessaria una verifica della specificità del test nella nostra popolazione pediatrica.

Obiettivi - verificare la frequenza di colonizzazione nasale da *S.pneumoniae* e la frequenza di positività al test

Materiali e metodi - essudato nasofaringeo: raccolta con tamponi Amies Copan, semina su Columbia CNA agar con 5 % di sangue di montone, incubazione a 36 °C in 5% CO2 per 24 ore. *S.pneumoniae* identificato per morfologia, caratteristiche al Gram, sensibilità alla optochina, agglutinazione positiva con antisiero Slaidex Pneumokit (BioMerieux); urina per antigeni *S.pneumoniae*: raccolta di 5 ml con provetta sterile, concentrazione X 50 con Amicon B15 Millipore, ricerca antigene polisaccaridico con test immunocromatografico Binax NOW

Risultati - Nel periodo Dicembre 2002-Marzo 2003 sono stati valutati 26 bambini, con una età mediana di 41 mesi, di cui 7 con bronchite (gruppo A), 15 con polmonite (gruppo B), 1 con otite media (gruppo C) e 3 con infezioni delle alte vie respiratorie (gruppo D).

Solo 4 su 26 erano portatori di *S.pneumoniae*, 1 nel gruppo A e 3 nel gruppo B: nessuno di questi era positivo al test NOW.

L'antigene era invece positivo nel 57 % dei bambini con bronchite (gruppo A) e nel 73 % di quelli con polmonite (gruppo B).

L'eliminazione dell'antigene si è protratta per 4 - 8 settimane nei bambini del gruppo B.

Conclusioni - Nel nostro studio l'eliminazione urinaria di antigene non sembra correlata alla colonizzazione ma piuttosto ad una infezione recente od acuta. Anche se questi risultati dovranno essere confermati da una maggiore casistica, riteniamo che il test NOW sia un ottimo test per fare una diagnosi eziologia non invasiva di polmonite anche in età pediatrica, oltre che negli adulti.

M026

PROPRIETÀ ANTIBATTERICHE DI PIANTE AROMATICHE

Fabio A.*, Forte E.***, Nanni H.**

*Laboratorio di Microbiologia, Arcispedale S. Maria Nuova, V.Risorgimento, Reggio Emilia** ARPA, Dipartimento Tecnico, P.Malatesta 30, Rimini***Dipartimento di Scienze Igienistiche, Microbiologiche, Biostatistiche, Università di Modena e Reggio Emilia, V.Campi 287, Modena

Molte piante o parti di piante aromatiche tradizionalmente considerate digestive vengono usate ancora oggi (foglie di citronella, menta e salvia, semi di finocchio e di comino). La parte attiva è quella oleosa responsabile di notevoli e diverse attività biologiche. Abbiamo quindi studiato l'efficacia degli estratti oleosi di piante utilizzate per l'effetto digestivo: menta piperita (*Mentha piperita*), salvia (*Salvia officinalis*), finocchio (*Foeniculum vulgare*), comino (*Cuminum cyminum*), citronella (*Cymbopogon citratus*), santoreggia (*Satureia montana*) e origano (*Origanum vulgare*) su microrganismi di isolamento clinico e alimentare (*Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* enterotossina produttore, *Staphylococcus aureus* enterotossico, *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella infantis*, *Escherichia coli*, *Plesiomonas shigelloides*) (tre ceppi per specie) secondo il metodo dell'agar-diffusione in Tryptic Soy Agar.

La minima concentrazione inibente (MIC) è stata determinata in micropiastre con l'aggiunta di Tween 20. Le prove sono state effettuate in doppio e ripetute tre volte.

Tutti i composti hanno mostrato con un diverso spettro d'azione attività antimicrobica. L'origano è risultato il più efficace (sono risultati più sensibili i germi Gram-positivi dei Gram-negativi) seguito dalla santoreggia. La menta piperita ha mostrato effetto inibente nei confronti di *B.cereus* e, in minor misura, verso *Salmonella infantis* e *Staphylococcus aureus*. La salvia e la citronella sono risultate efficaci prevalentemente verso *Staphylococcus aureus*. I semi di finocchio e di comino, dotati in genere di scarso potere antimicrobico, hanno inibito comunque la crescita di *B.cereus*. I dati ottenuti dalle MIC si allineano con quanto esposto precedentemente.

Questi risultati lasciano ipotizzare che l'uso tradizionale di alcune piante aromatizzanti nella prevenzione e nel trattamento di disturbi gastrointestinali possa essere empiricamente fondato sul loro potere antibatterico. L'esistenza di questo effetto protettivo aiuterebbe a spiegare la reputazione di queste piante aromatiche con proprietà digestive.

Si ritiene pertanto che derivati vegetali dotati di attività antibatterica possano essere utilizzati in diversi campi anche al di fuori della medicina tradizionale.

M027**DIAGNOSI SIEROLOGICA DI
CHLAMYDIA PNEUMONIAE:
DUE METODOLOGIE A CONFRONTO**

De Luca C., Lambiase A., Piccoli S., Avagliano G.,
Napolitano A., Tamburro F., Formicola V., Grisolia V.,

Area Funzionale di Diagnostica Microbiologica,
AUP Università "Federico II" Napoli.
Azienda Ospedaliera Santobono-Pausillipon

Chlamydia pneumoniae (Cp) rappresenta un importante patogeno respiratorio responsabile di circa il 10% di tutti i casi di polmonite di pazienti ospedalizzati ed in comunità. Fu isolato per la prima volta a Taiwan e classificato solo nel 1989 come una nuova specie del genere *Chlamydia*. La vera incidenza non è conosciuta per la difficoltà di confermare la diagnosi, ma si ritiene che nel mondo circa la metà della popolazione adulta presenti anticorpi anti-Cp e che l'incidenza annuale sia valutabile attorno al 1-2%. La diagnosi di laboratorio è basata sulla ricerca sierologica delle immunoglobuline di classe M, A e G in quanto quella diretta tramite coltura e/o metodiche di amplificazione genica (NAA, Nucleic Acid Amplification) non sono di routine.

Obiettivo del nostro studio è stato quello di correlare due differenti metodi di indagine: ELISA (Cp-test, Eurospital, Trieste) che utilizza come antigeni corpi elementari purificati del ceppo TW183, e la MIF (MRL, Alifax) descritta da Yang e Grayston, che fa uso anch'essa di corpi elementari purificati ma adesi a slide, ritenuta il test di riferimento. Sono stati testati 185 campioni di siero degli ultimi tre anni, provenienti da bambini di età compresa tra 1 e 12 anni, di cui 150 con infezioni respiratorie e 35 risultati sani all'esame obiettivo e MIF negativi; è stato nostro interesse inoltre verificare la sieroprevalenza nel campione esaminato.

In 43/150 bambini (28,6%) con sintomatologia respiratoria è stata diagnosticata infezione da Cp secondo i criteri comunemente accettati: affezione respiratoria alte e/o basse vie, presenza di titolo anticorpale IgM >=16, IgG >=512, scomparsa della sintomatologia dopo trattamento con macrolidi.

I risultati della correlazione sono riassunti nelle tabelle 1 e 2.

Tab.1	Gruppo di Controllo (N=35)		
	MIF	ELISA	Concordanza %
IgM neg	35	35	100
IgG neg	35	34	97.14

Tab.2	Gruppo Pazienti (N=150)		
	MIF	ELISA	Concordanza %
IgM pos	43	43	100
IgG pos	57	59	96.6

Sieroprevalenza: IgG 38% (MIF)
Incidenza: IgM 28.6%

Questi dati indicano che la metodica in ELISA può considerarsi un metodo affidabile per la diagnosi sierologica di Cp. Inoltre l'interpretazione non soggettiva, la facilità di esecuzione e la possibilità di automazione rappresentano un notevole vantaggio anche per la verifica epidemiologica.

M028**FARINGO-TONSILLITI DA
STREPTOCOCCUS PYOGENES:
STUDIO DELLA RESISTENZA AI MACROLIDI**

Bandettini R., Pescetto L., Lualdi S., Mentasti M.,
Barretta M.A.

Laboratorio Analisi chimico-cliniche e Microbiologia -
Istituto Giannina Gaslini, GENOVA.

Introduzione:

In Italia negli anni '90 è stato segnalato un graduale incremento d'incidenza di ceppi resistenti a eritromicina. Lo scopo del nostro studio è stato quello di valutare la resistenza ai macrolidi e i fenotipi di resistenza in ceppi di *Streptococcus pyogenes* isolati in pazienti in età pediatrica durante un episodio epidemico.

Materiali e metodi:

Sono stati studiati 120 ceppi di *Streptococcus pyogenes* isolati da tamponi faringei. Isolati multipli dello stesso paziente sono stati scartati. La valutazione della sensibilità agli antibiotici è stata condotta con il test di diffusione da dischetto in agar Mueller Hinton + 5% sangue di montone. I fenotipi di resistenza ai macrolidi sono stati studiati con l'apposizione di un dischetto di clindamicina a circa 2 cm. da uno di eritromicina.

Risultati:

Tutti i 120 (100%) ceppi di *Streptococcus pyogenes* sono risultati sensibili alla penicillina; 35 (29,1%) sono risultati resistenti a eritromicina mentre 13 (10,8%) a rokitamicina; 18 (15%) infine sono risultati resistenti a clindamicina. Per quanto riguarda i fenotipi di resistenza ai macrolidi abbiamo avuto i seguenti risultati:

il 52,2% di ceppi eritromicino-resistenti erano fenotipo Costitutivo, il 39,1% fenotipo M e 8,7% fenotipo Inducibile.

Discussione:

Anche questo studio conferma i dati riportati in letteratura riguardo la penicillina come farmaco più attivo verso *Streptococcus pyogenes*. Per quanto riguarda l'attività dei macrolidi abbiamo rokitamicina che mostra una migliore performance rispetto a eritromicina nonostante la percentuale di resistenza sia più elevata rispetto alle nostre precedenti osservazioni condotte nel biennio 2001-2002 (rispettivamente 7,7% e 5,0%). Diversamente dai dati riportati in letteratura abbiamo una maggiore prevalenza del fenotipo Costitutivo mentre l'Inducibile è solo l'8,7%. In conclusione è importante continuare il monitoraggio dell'antibiotico-resistenza di *Streptococcus pyogenes* e instaurare/mantenere una stretta collaborazione con il clinico per una più razionale applicazione terapeutica.

M029**IL TEST IMMUNOCROMATOGRAFICO
"MONOSTEP HP - DYASET" PER LA
DETERMINAZIONE DI ANTIGENI
DI HELICOBACTER PYLORI NELLE FECI.**

Moroni A., Marangoni A., Storni E., Biagi M., Savioli F.,
Maresta P., Sambri V., Cevenini R.

U.O. Microbiologia, Policlinico S.Orsola-Malpighi.Via Massarenti 9,
40138 Bologna.

In questo studio sono stati comparativamente valutati due

differenti kit la determinazione della presenza di antigene di *H. pylori* nelle feci: "Monostep HP - DYASET" e "Fecal-clean Helicobacter p. Ag - ASTRA Medic". Il primo è un metodo immunocromatografico su cartuccia che impiega anticorpi policlonali anti *H. pylori* coniugati con oro colloidale, mentre il secondo è un metodo immunoenzimatico "a sandwich" basato su micropiastre sensibilizzate con anticorpi monoclonali *H. pylori* specifici.

In questo studio sono stati valutati 250 campioni fecali ottenuti da pazienti con sintomatologia dispeptica inviati al Laboratorio per la determinazione della presenza di antigeni fecali di *H. pylori*. L'età dei pazienti era variabile da 4 mesi a 93 anni e la suddivisione per sesso era del 49.4% per il sesso femminile e del 50.6% per quello maschile. Il metodo ASTRA Medic ha messo in evidenza i seguenti risultati: 210 negativi, 26 positivi e 14 border line. Il metodo immunocromatografico ha mostrato i seguenti risultati: 180 campioni negativi, 20 border line (intensità di reazione paragonabile al controllo "border line" fornito col kit) e 50 positivi. La comparazione fra i risultati ottenuti coi due metodi si evince che: 176 campioni fecali sono stati identificati come negativi da entrambi i metodi utilizzati, 25 sono stati i campioni identificati come positivi da questi due kit e 5 sono stati i risultati border line per entrambi i metodi. Le discrepanze di risultato messe in evidenza sono state quelle di seguito riportate: 17 campioni negativi per il kit ASTRA Medic sono stati identificati come positivi dal test immunocromatografico mentre 15 sono stati identificati come border line dallo stesso metodo rapido. Dei 9 campioni identificati come border line dal metodo immunoenzimatico non concordanti col test rapido 2 sono risultati negativi e 7 positivi. E' stata inoltre valutata la concordanza (su un ridotto numero di campioni pari a 70 totali) con un altro kit immunoenzimatico ("AMPLIFIED IDEIATMHP STARTM - DAKO") con risultati sostanzialmente paragonabili. Dati preliminari sulla specificità del test immunocromatografico sono stati ottenuti con differenti campioni fecali (da soggetti sani e preventivamente esaminati sia col metodo immunoenzimatico che cromatografico) contenenti quantità note dei seguenti batteri e virus (potenzialmente interferenti): *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter upsaliensis*, *Salmonella* spp. (gruppo B), *Escherichia coli* (stipite enteropatogeno), rotavirus e adenovirus. I dati suggeriscono che il test immunocromatografico DYASET possa essere utilizzato, come metodo rapido, per la diagnosi di infezione da *H. pylori* poiché sufficientemente sensibile e specifico.

M030

VALUTAZIONE DI UN METODO DIRETTO PER L'ESECUZIONE DI IDENTIFICAZIONE ED ANTIBIOGRAMMA DA EMOCOLTURE CON SISTEMA VITEK2

Conte E., Vismara C., Corengia V., Carati M.R., Viola G.

Laboratorio di Analisi Cliniche e Microbiologia, Istituto per lo Studio e la Cura dei Tumori di Milano

Obiettivo: valutazione di un metodo rapido per la processazione delle emocolture che permetta di ridurre i tempi di risposta nella diagnostica delle batteriemie.

Metodologia: la tecnica prevede l'allestimento di identificazione ed antibiogramma direttamente dai flaconi per emocoltura segnalati positivi da Bactec 9120 dopo aver ottenuto, mediante doppia centrifugazione, una sospensione batterica idonea all'inoculo delle card specifiche col sistema Vitek2. La scelta delle card è conseguente alle caratteristiche del microrganismo evidenziate con la colorazione di Gram. Sono

state effettuate anche le semine su idonei terreni di coltura ed eseguiti antibiogramma ed identificazione da colonie (metodo standard); sono stati in seguito confrontati i risultati.

Risultati: sono stati valutati 56 casi di batteriemie comparando i risultati ottenuti con entrambi i metodi.

Per quanto riguarda i Gram negativi, il metodo diretto ha permesso di ottenere una identificazione valida per 21 microrganismi rispetto ai 20 del metodo standard; per i Gram positivi una corretta identificazione è stata ottenuta in 23 microrganismi con il metodo diretto e in 25 con il metodo standard (tabella 1).

Tabella 1:

	GRAM NEGATIVI		GRAM POSITIVI	
Identificazione	Metodo Diretto	Metodo Standard	Metodo Diretto	Metodo Standard
Accettabile, Buona, Molto buona, Eccellente	21	20	23	25
Discriminazione insufficiente	3	3	5	4
Non accettabile	0	1	3	2

Per quanto riguarda gli antibiogrammi sono state confrontate, per ciascuna combinazione antibiotico-microrganismo, le classi di sensibilità (S-I-R) e sono state definite "minor error" le discordanze che comportano il passaggio da una classe di sensibilità a quella immediatamente successiva o precedente (S-I oppure I-R), "major error" il passaggio da Resistente a Sensibile e "very mayor error" il caso opposto.

Analizzando i nostri dati si evince che su 56 ceppi testati (per un totale di 865 combinazioni antibiotico-microrganismo) abbiamo avuto una concordanza di risultati pari al 96%; sono state individuate 34 discordanze di cui solo 3 "very major error" (0.3%) (tabella 2).

Tabella 2:

ANTIBIOGRAMMA N° test 865		
Agreement	831	96%
Very major Error	3	0.3%
Mayor error	2	0.2%
Minor error	29	3.5%

Conclusioni: i risultati delle identificazioni ottenute con i due metodi sono paragonabili; utilizzando il metodo diretto sarebbe quindi possibile fornire l'identificazione batterica entro poche ore dalla positivizzazione dell'emocoltura. Per quanto riguarda i test di sensibilità l'elevata concordanza riscontrata nei risultati giustifica l'utilizzo del metodo diretto poiché permette di anticipare la risposta definitiva di 12-24 ore e di impostare precocemente una terapia antibiotica mirata.

M031

POLMONITI DA COXIELLA BURNETII: SEGNALE DI UN'EPIDEMIA IN PROVINCIA DI COMO

Pusterla L., Sala E., Spinelli M., Savio S., Cimetti S., Gangemi A., Maspero A., Giura R., Gandola O., Gridavilla G., Longoni E., Santoro D., Giana G.

Laboratorio di Patologia Clinica, *U.O. Pneumologia, °U.O. Malattie Infettive, #Direzione Sanitaria - Ospedale Sant'Anna - ^Servizio di Medicina Veterinaria - Azienda Sanitaria Locale - COMO.

• *Coxiella burnetii*, agente eziologico responsabile della febbre Q, è un germe intracellulare appartenente alla fami-

glia *Rickettsiaceae*. Nell'animale è responsabile di zoonosi epidemiche. L'uomo è colpito occasionalmente venendo a contatto con animali infetti o loro prodotti. La malattia è sistemica con prevalente impegno respiratorio. L'espressione antigenica del microrganismo subisce variazioni di "fase": I, "naturale" e II, da passaggio in coltura. La ricerca anticorpale IgG-IgM anti-*C. burnetii*, trova applicazione nella diagnosi delle polmoniti.

- Nel febbraio del corrente anno si sono verificati casi di polmonite nei detenuti della Casa Circondariale di Como e negli abitanti delle zone limitrofe: per definire l'eziologia si sono ricercati gli antigeni di *Legionella pneumophila* sg.1 e di *Streptococcus pneumoniae* nelle urine dei pazienti, gli anticorpi IgG per *L. pneumophila* sg. 1-6, IgM per *Mycoplasma pneumoniae* e IgG-IgM per *Chlamydia pneumoniae* e *pittaci* su siero, tutte con esito negativo. La C.C. è in una zona periferica della città ed i prati circostanti sono sede di pascolo per i greggi. Nel sospetto di febbre Q, è stata quindi condotta la ricerca anticorpale per *C. burnetii*: vengono riportati i casi di polmonite da *C. burnetii* in carcerati e residenti nelle zone limitrofe a quelle di pascolo, per un totale di 16 casi. Clinicamente: esordio acuto con iperpiressia, insufficienza respiratoria, toracoalgia. Radiologicamente: addensamenti lobari franchi o reticolo-nodulazioni.

- In 14 casi la sierologia IgG-IgM verso antigeni di fase I e di fase II, conferma una infezione acuta da *C. burnetii*; in due casi si è avuta risposta con titolo significativo per IgG. Anche il gregge è stato indagato con sierologia: 320 capi positivi su 748; 3 dei 5 cani-pastore erano pure positivi.

- La diagnosi eziologica ha permesso una terapia antibiotica mirata con chinolonici o macrolidi nei casi di polmonite; il gregge è stato trattato con tetracicline. *C. burnetii* permane a lungo nel terreno in forma infettante: sono da attendersi nuovi casi di polmonite negli abitanti delle zone limitrofe a quelle di pascolo.

M032

BATTERIEMIE IN ETÀ NEONATALE : ESPERIENZA NEL TRIENNIO 2000-2002 IN UNA UNITÀ DI TERAPIA INTENSIVA NEONATALE.

Giannobile G., Genco R., Puccio G., Turchio B., Verro M.,
La Chiusa S.,

U.O.C. Patologia Clinica, Ospedale Buccheri La Ferla BFB, Palermo

Scopo del lavoro Scopo del lavoro è valutare la frequenza di positività delle emocolture effettuate nel triennio 2000-2002 nel nostro reparto di terapia intensiva neonatale e rilevare inoltre l'incidenza dei vari microrganismi isolati.

Materiali e metodi Nel triennio considerato sono giunte nel nostro laboratorio 1160 emocolture, i flaconi utilizzati BACTEC PEDS PLUS/F (BD) per germi aerobi sono stati incubati per 7 giorni nello strumento automatico BACTEC 9240.

Risultati Sono risultati positive 137 emocolture cioè l'11.8% del totale. Sono stati isolati 75.02% di batteri gram positivi, 5.11% di miceti ed infine 19.87% di batteri gram negativi. Le specie microbiche sono così distribuite: Stafilococchi coagulasi negativi il 56.94% con maggiore incidenza dello *Staphylococcus epidermidis* (40.88%), *Staphylococcus haemolyticus* (5.57%) *Staphylococcus warneri* (2.11%) *Staphylococcus chromogenes* (1.19%) lo *Staphylococcus aureus* incide per il 3.65%, gli enterococchi rappresentano il 5.11% gli *Streptococcus* spp. l'8.03%.

Tra i batteri gram negativi i non fermentanti rappresentano

8.76% le Enterobacteriaceae il 9.49% tra queste ultime l'*Escherichia coli* incide per il 3.92% e la *Klebsiella* spp. per l'1.73%.

Conclusioni L'elevata incidenza rilevata degli stafilococchi coagulasi negativi è da mettere in relazione, nella maggior parte dei casi, alla contaminazione durante la fase del prelievo che sappiamo essere più difficoltosa nel neonato rispetto ai bambini e all'adulto. Le cause di falsi positivi sono da ascrivere a prelievi eseguiti scorrettamente da calcagno da vasi ombelicali o con inadeguata disinfezione della cute. La fase preanalitica, che risulta quindi la più critica, comporta l'esecuzione di norme ben definite: i prelievi venosi si effettuano da almeno due siti differenti, il catetere ombelicale va utilizzato solo al momento dell'inserzione, il prelievo da catetere venoso centrale deve essere sempre accompagnato da un prelievo periferico.

M033

SENSIBILITÀ AGLI ANTIBIOTICI DI ENTEROBATTERI URINARI ISOLATI DA PAZIENTI AMBULATORIALI NEL TERRITORIO DEL FORTORE IN PROVINCIA DI BENEVENTO.

De Conno D.

Laboratorio di Patologia Clinica, Distretto Sanitario n. 23
di S. Bartolomeo in Galdo, A.S.L. BN 1, Benevento

Scopo Col presente studio, effettuato durante il 2001-2002 nell'ambito del Distretto Sanitario N. 23 dell'A.S.L. BN 1, si è valutato la frequenza di isolamento dei vari stipiti di Enterobatteri e di *Pseudomonas aeruginosa* responsabili di infezioni alle vie urinarie (I.V.U.), nonché la loro sensibilità e resistenza nei confronti di diverse classi di antibiotici. Utile sarà l'aggiornamento continuo dei dati al fine di permettere il costante monitoraggio sul territorio degli enteropatogeni urinari di più frequente riscontro e la sorveglianza delle antibiotico-resistenze.

Materiali e metodi 600 campioni di urine, raccolti mediante mitto intermedio da pazienti con sospetta I.V.U., sono stati seminati su terreno dip-slide triplo (CLED, MacConkey, Cetrimide). Dopo incubazione a 37 °C per 18-24 ore, sono state considerate urinocolture con sviluppo significativo quelle con carica batterica ≥ 100.000 CFU/ml su terreno CLED. L'identificazione biochimica ed il saggio degli antibiotici sono stati eseguiti con metodo semiautomatico mini-API della Ditta bio-Merieux in uso presso il nostro Laboratorio.

Risultati La frequenza % di stipiti isolati è stata del 92% per *E.coli*, del 5% per *Proteus mirabilis*, del 2% per *Pseudomonas aeruginosa*, del 1% per *Klebsiella pneumoniae*. I risultati del saggio degli antibiotici sono stati espressi come % di ceppi Sensibili, Intermedi e Resistenti. Per *E.coli* la sensibilità è risultata del 100% per Piperacillina-Tazobactam, Meropenem, Ceftriaxone, di circa il 99% per Aztreonam, Cefotaxime, Imipenem, compresa tra il 95,5-98,6 % per Netilmicina, Fosfomicina, Tobramicina, del 92,7% per Amoxicillina-Ac.clavul., inferiore al 90 % per i chinolonici Ac.nalidixico, Ciprofloxacina e Norfloxacina ad eccezione di Pefloxacina che è risultata pari al 94,1 %. La sensibilità più bassa si è osservata per Ticarcillina e per Amoxicillina rispettivamente del 72,4% e del 66,8 %. Per *Proteus mirabilis* la sensibilità è risultata del 100% per Ceftriaxone, Aztreonam, Imipenem, Piperacillina-Tazobactam, Pefloxacina, del 92,3 % per Amoxicillina-Ac.clavul., del 85% per gli altri chinolonici e per Netilmicina, del 46,2 % per Amoxicillina e dello 0% per

Nitrofurantoina. Per *Klebsiella pneumoniae* il pattern di sensibilità è di circa il 100% per la maggior parte degli antibiotici testati ad eccezione di Amoxicillina e Ticarcillina che è dello 0%. Per *Pseudomonas aeruginosa* la sensibilità è risultata del 100% per Aztreonam, Piperacillina-Tazobactam, Amikacina, Netilmicina, del 50% per Ceftriaxone ed altre cefalosporine di III generazione, per Tobramicina, Fosfomicina, Ciprofloxacina, dello 0% per Amoxicillina, Cefalotina, Cefepime, Nitrofurantoina, Amoxicillina-Ac.clavulanico.

Conclusioni Dai dati osservati si evince che anche nel nostro territorio gli Enterobatteri sono causa delle maggior parte delle I.V.U. e che in vitro risultano sensibili soprattutto alle cefalosporine di III generazione, alla pefloxacina, alla netilmicina, all'amoxicillina-ac.clavulanico ed alle ureidopenicilline con inibitore. Per *P.aeruginosa*, essendo la sensibilità limitata a pochi antibiotici a causa delle multiresistenze, la sensibilità antibiotica in vitro va valutata di volta in volta su ogni singolo ceppo isolato.

Considerando la significatività del campione studiato, si è osservata una frequenza elevata di isolamento di E.coli, rispetto ai dati nazionali ed internazionali, mentre la presenza di Enterobatteri è risultata solo di pochi stipiti. Lo studio proseguirà nell'acquisizione di ulteriori dati per poter valutare in modo più completo quanto osservato per la prima volta nel nostro territorio.

M034

SENSIBILITA' AGLI ANTIBIOTICI DI CEPPI DI *HELICOBACTER PYLORI* ISOLATI DA PAZIENTI CON RECIDIVE.

Franzin L., Cabodi D., Bonfrate N.

Sezione Malattie Infettive, Università di Torino, Ospedale "Amedeo di Savoia", Corso Svizzera 164, 10149 Torino.

Obiettivi: I pazienti con ulcera gastrica e duodenale da *Helicobacter pylori* vengono sottoposti a terapia combinata che include claritromicina. L'eradicazione del batterio è tuttavia difficile a causa di resistenze primarie e secondarie. Lo scopo del lavoro è la determinazione della sensibilità agli antibiotici di ceppi di *H. pylori* isolati da pazienti con infezione refrattaria a precedenti cicli di terapia.

Metodi: Sono state esaminate biopsie gastriche (antro e fondo) prelevate da 35 pazienti (12 maschi, 23 femmine; età media: 52 anni, range: 27-73) con infezione da *H. pylori* resistente ad uno o più cicli di terapia. Le colture sono state eseguite su terreno Agar Sangue e Agar Dent a 37°C in microaerofilia. La determinazione della sensibilità dei ceppi di *H. pylori* a claritromicina, metronidazolo, amoxicillina e tetraciclina è stata eseguita su terreno Agar Sangue con il metodo di diffusione da disco e con E-test.

Risultati: *H. pylori* è stato isolato da 21 (60%) pazienti; in 14 soggetti la coltura è risultata negativa a causa della presenza di batteri contaminanti. Resistenze sono state riscontrate nei seguenti pazienti: 18 (86%) per claritromicina, 13 (62%) per metronidazolo, 1 (5%) per amoxicillina e 0 per tetraciclina. Resistenza ad almeno un farmaco è stata osservata nel 95% dei soggetti, resistenza contemporanea a claritromicina e amoxicillina nel 48%. 86% dei pazienti precedentemente trattati con claritromicina e amoxicillina risultavano resistenti a claritromicina. 75% dei pazienti sottoposti a precedente terapia con Nitroimidazoli (metronidazolo, tinidazolo) presentava resistenza a metronidazolo.

Conclusioni: Considerata la percentuale elevata di ceppi resistenti a claritromicina e a metronidazolo si ritiene parti-

colarmente utile la valutazione della sensibilità agli antibiotici di ceppi di *H. pylori* in pazienti con sintomi persistenti e refrattari a terapie ripetute. La tetraciclina non ha presentato resistenze nei soggetti esaminati ed è perciò consigliata nella terapia combinata alternativa.

M035

DETERMINAZIONE DI ANTIGENI DI *HELICOBACTER PYLORI* IN MATERIALE FECALE CON L'IMPIEGO DI "AMPLIFIED IDEIA™ HP STAR™ - DAKO" E "FECAL-CLEAN *HELICOBACTER P. AG* - ASTRA MEDIC".

Cavrini F.; Della Bella E.; Ruscello S.; Capitani S.; Donati M.; Sambri V.; Cevenini R.

U.O. Microbiologia, Policlinico S.Orsola-Malpighi.
Via Massarenti 9, 40138 Bologna.

In questo studio sono stati comparativamente valutati due differenti kit basati sulla tecnologia immunoenzimatica per la determinazione della presenza di antigeni di *H.pylori* nelle feci: "Amplified IDEIA™Hp StAR™ - DAKO" e "Fecal-clean *Helicobacter p. Ag* - ASTRA Medic". Entrambi i metodi sono basati sull'impiego di micropiastre sensibilizzate con anticorpi monoclonali *H.pylori* specifici che legano gli antigeni eventualmente presenti nel materiale fecale che va opportunamente diluito prima di eseguire il test. La rivelazione dell'avvenuto attacco fra antigeni di *H.pylori* e anticorpo monoclonale adeso alla piastra si ha tramite un secondo anticorpo monoclonale coniugato con perossidasi che viene immerso nel pozzetto assieme alla sospensione fecale. Al termine del periodo di incubazione la piastra viene lavata e la reazione antigene anticorpo si rivela con un opportuno substrato enzimatico e lettura visiva o colorimetrica. Il metodo "Amplified IDEIA™Hp StAR™ - DAKO" presente inoltre una tecnologia di amplificazione duale.

In questo studio sono stati valutati 72 campioni fecali ottenuti da pazienti con sintomatologia dispeptica inviati al Laboratorio per la determinazione della presenza di antigeni fecali di *H.pylori*. L'età dei pazienti era variabile da 4 mesi a 90 anni e la suddivisione per sesso era del 48.6% per il sesso femminile a del 51.4% per quello maschile. Il metodo ASTRA Medic ha messo in evidenza i seguenti risultati: 64 negativi, 5 positivi e 3 border line. Il metodo DAKO ha mostrato i seguenti risultati: 61 campioni negativi e 11 positivi; va segnalato che questo test non prevede una "grey zone" in cui si collochino i campioni border line. Comparando i risultati ottenuti coi due metodi si evince che: 58 campioni fecali sono stati identificati come negativi da entrambi i metodi utilizzati e 3 sono stati i campioni identificati come positivi da questi due kit. Le discrepanze di risultato messe in evidenza sono state quelle di seguito riportate: 6 campioni negativi per il kit ASTRA Medic sono stati identificati come positivi da DAKO e 2 campioni positivi per ASTRA Medic sono risultati negativi quando valutati con il kit DAKO. Dei 3 campioni identificati come border line dal metodo ASTRA Medic 2 sono risultati positivi per il kit DAKO e 1 solo negativo. Questi dati suggeriscono che entrambi i kit valutati possono essere utilizzati per la diagnosi di infezione da *H.pylori* e che il kit DAKO potrebbe essere dotato di una leggermente superiore sensibilità analitica che deve essere confermata alla luce dei dati clinici dei pazienti.

M036

ENTEROBATTERI: RICERCA DI EVENTUALI PRODUTTORI DI ESBL

Sartori R., Caola I., Gaiò M., Gardumi A., Perfetti I.,
*Ruina A., Caciagli P.

Laboratorio di Microbiologia Ospedale di Trento
*Dade Behring s.p.a Milano

Scopo Valutare l'epidemiologia dei ceppi di enterobatteri produttori di ESBL isolati di routine nel nostro laboratorio. **Materiali e Metodi** Nel 2002 sono stati isolati (esclusi i duplicati) 5284 ceppi di enterobatteri, di cui 3256 *E.coli*, 523 *K.pneumoniae* e 151 *K.oxytoca*. L'identificazione biochimica e l'antibiogramma sono stati eseguiti con il sistema automatico Microscan Walk-Away (Dade-Behring). Tale sistema segnala la possibile presenza di ESBL nei ceppi di *E.coli*, *K.pneumoniae* e *K.oxytoca* secondo le raccomandazioni dell'NCCLS. La produzione di ESBL in questi ceppi è stata valutata tramite E-test ESBL (AB Biodisk, Solna Sweden) seguendo metodica, interpretazione dei risultati e controllo di qualità secondo il produttore (specificità del 99% e sensibilità del 95% comparate al metodo di riferimento dell'NCCLS). Nel primo quadrimestre 2003 la ricerca dei ceppi possibili produttori di ESBL è stata estesa, attraverso il sistema esperto dello strumento, alle altre Enterobacteriaceae per valutare l'incidenza di ceppi produttori di ESBL. Durante questo periodo gli enterobatteri isolati sono stati 1590, di cui 1006 *E.coli*, 132 *K.pneumoniae*, 28 *K.oxytoca* e 169 *P.mirabilis*.

Risultati Nel 2002 i ceppi produttori di ESBL (esclusi i duplicati) sono stati 61, di cui: 23 *E.coli* (0,70% del totale di *E.coli*), 32 *K.pneumoniae* (6,11%), 6 *K.oxytoca* (3,97%). 42 dei 61 ceppi produttori di ESBL (68,85%) sono stati isolati da urine, 3 (4,91%) da sangue, 16 (26,22%) dagli altri materiali. 29 dei nostri 61 ceppi (47,54%) sono stati isolati da pazienti delle RSA (9), di un reparto di lungodegenti (10) e della geriatria (10), 16 (26,22%) da pazienti ricoverati in altri reparti, 11 (18,03%) da pazienti ambulatoriali. Nel primo quadrimestre 2003, in cui la ricerca è stata estesa a tutti gli enterobatteri, i ceppi produttori di ESBL sono stati 59, di cui 12 *E.coli* (1,19 % del totale di *E.coli*), 11 *K.pneumoniae* (8,33%), 29 *P.mirabilis* (17,16 %), 3 *M.morganii*, 1 *E.aerogenes*, 1 *E.cloacae*, 1 *P.stuartii* e 1 *S.liquefaciens*. Del totale, 46 (77,99%) sono stati isolati da urine, 1 (1,69%) da sangue e 12 (20,33%) dagli altri materiali. Per quanto riguarda la provenienza, 31 ceppi (52,54%) erano delle RSA (18), del reparto lungodegenti (12) e della geriatria (1), 13 (22,03%) degli altri reparti e 15 (25,42%) ambulatoriali.

Conclusioni La prevalenza di ceppi di *P.mirabilis* produttori di ESBL isolati nel I quadrimestre del 2003 nel nostro laboratorio, suggerisce di continuare lo screening per la produzione di ESBL routinariamente anche su questa specie, per monitorare il fenomeno che può acquisire un notevole impatto, particolarmente per le infezioni urinarie nei pazienti anziani delle RSA e nei pazienti lungodegenti.

M037

LA PROCALCITONINA (PCT) NELLA DIAGNOSI E NEL MONITORAGGIO DELLA SEPSI.

Passerini R., Roth M.T., Gnasso L., Sandri M.T.

Unità di Anatomia Patologica e Medicina di Laboratorio
I.R.C.C.S. Istituto Europeo di Oncologia - Milano

La PCT, parametro diagnostico caratterizzato da elevata specificità per le infezioni batteriche sistemiche, trova utilizzo clinico principale nella diagnosi e nel monitoraggio delle forme settiche. In questo lavoro è stato effettuato un confronto fra i valori della PCT e quelli di altri marcatori di infezione in un gruppo di pazienti in corso di sepsi, per valutarne l'utilità diagnostica ed il valore prognostico.

Sono stati monitorati 21 pazienti, ricoverati nel reparto di Terapia Intensiva del nostro Istituto dei quali sono stati quotidianamente registrati temperatura corporea, livelli di PCT, PCR (Proteina C Reattiva) e numero dei leucociti; 14 pazienti presentavano episodi infettivi gravi, 7 pazienti, non settici, sono stati utilizzati come gruppo di controllo.

Dei 21 pazienti 5 sono giunti ad exitus, dopo una degenza media in Terapia Intensiva di 33 giorni (range 18 - 55, DS 16) e 16 sono stati dimessi dopo un ricovero variabile dai 8 ai 95 giorni (media 40, DS 25). Sono stati eseguiti 489 dosaggi di PCT, in media 23 per paziente, 765 conteggi di leucociti, 36 in media per paziente, e 638 dosaggi di PCR, in media 30 per paziente; sono stati inoltre eseguiti diversi esami culturali, a seconda delle sedi di infezione.

I risultati ottenuti da questo monitoraggio dimostrano completa concordanza fra il decorso clinico e l'andamento valori della PCT, in accordo con i dati della letteratura: infatti solo nei pazienti deceduti tali valori sono gradualmente aumentati, mantenendosi costantemente elevati.

Sono infine stati valutati Sensibilità, Specificità, VPP, VPN e Significatività della PCT in corso di sepsi a diversi cut-off (0.5, 1.0 e 2.0 ng/ml): dai risultati della analisi si ritiene che il valore di 1.0 ng/ml sia quello caratterizzato da migliore capacità predittiva della evoluzione dello stato settico.

M038

VALUTAZIONE DELL'ANTIBIOTICO-RESISTENZA DI CEPPI DI ENTEROCOCCUS SPP. ISOLATI IN AMBIENTE OSPEDALIERO

Carraturo A., Raieta K., Marchetti C., Tega L.,

Servizio di Patologia Clinica, P.O. "S. M. Goretti", AUSL Latina

Obiettivi Negli ultimi anni si è assistito ad un costante aumento di infezioni nosocomiali causate da *Enterococcus* spp. Tale incremento può essere spiegato grazie alle resistenze intrinseche o acquisite di questi microrganismi nei confronti di molti antibiotici comunemente utilizzati in terapia. Inoltre, il crescente impiego dei glicopeptidi nella terapia delle infezioni sostenute da batteri Gram positivi, ha portato all'isolamento crescente di ceppi di *Enterococcus* spp. resistenti a tali antibiotici. Scopo del presente lavoro è valutare l'entità delle resistenze agli antimicrobici di stipiti di Enterococchi isolati da campioni clinici diversi di pazienti ospedalizzati.

Materiali e metodi Nel corso dell'anno solare 2002, sono stati isolati presso la sezione di Microbiologia del nostro

Laboratorio 176 ceppi di *Enterococcus* spp. L'isolamento è avvenuto mediante semina su terreno di coltura Agar D-Coccosel. L'identificazione e l'antibiogramma degli isolati sono stati eseguiti mediante il sistema Vitek (bioMérieux, Marcy-l'Etoile, France).

Risultati I 176 ceppi di Enterococchi isolati (163 *Enterococcus faecalis*, 12 *Enterococcus faecium*, 1 *Enterococcus casseliflavus*) hanno rappresentato il 25,8% dei batteri Gram positivi e il 14% del totale degli isolati. Le percentuali di sensibilità delle due specie più frequentemente isolate, nei confronti delle molecole testate, sono le seguenti. Per quanto riguarda *Enterococcus faecalis*, la resistenza alla gentamicina (500 mg/ml) è risultata del 21,5%, mentre quella alla streptomina (2000 mg/ml) è stata pari al 41,7%. Il 79,8% dei ceppi è risultato resistente alle tetracicline, mentre tutti gli isolati sono risultati sensibili all'ampicillina e alla piperacillina. Nei confronti dei glicopeptidi si è avuto il 20,9% di resistenza alla vancomicina (5,5% R e 15,4% I) ed il 2,5% alla teicoplanina. Riguardo a *Enterococcus faecium*, invece, il 67% degli isolati è risultato essere resistente all'ampicillina e alla piperacillina, il 25% alla gentamicina, il 58,3% alle tetracicline e il 91,7% alla streptomina, mentre nessuna resistenza è stata riscontrata verso la nitrofurantoina. Gli stipiti di *Enterococcus faecium* isolati nel nostro Laboratorio, non hanno mostrato resistenza verso la teicoplanina, mentre tre ceppi (25%) sono risultati resistenti alla vancomicina. I reparti con le maggiori resistenze ai glicopeptidi sono risultati essere: Pediatria (*E. faecalis*: 26% vancomicina (V), 3,85% teicoplanina (T)), Ematologia (*E. faecalis*: 27% V, 9,1% T), Medicina (*E. faecalis*: 16% V, 1,2% T; *E. faecium*: 16,7% V).

Conclusioni Le resistenze multiple ai chemioterapici hanno reso gli enterococchi particolarmente adatti alla sopravvivenza in ambienti ospedalieri. Questo lavoro dimostra che anche nella nostra realtà sono ormai presenti ceppi di *Enterococcus* spp. resistenti agli aminoglicosidi e ai glicopeptidi. In particolare, *Enterococcus faecium* mostra una elevata resistenza alle penicilline e all'ampicillina. Tutto ciò porta alla vanificazione dell'effetto sinergico dell'ampicillina (o del glicopeptide) con l'aminoglicoside, con assenza dell'effetto battericida. E' necessario quindi un alto livello di sorveglianza epidemiologica di tali microrganismi per prevenire la loro ulteriore diffusione.

M039

INFEZIONI DA MICOPLASMI IN CAMPIONI GENITO-URINARI: EPIDEMIOLOGIA E ANTIBIOTICORESISTENZA

Masala L.; Boghi G.; Floris B.

Servizio di Laboratorio Analisi Chimico-Cliniche e Microbiologiche - P.O. "G.P. Delogu" - Ghilarza - ASL 5 Oristano

Scopo Il presente lavoro intende valutare la frequenza di isolamento di Micoplasmi in campioni genito-urinari provenienti da una popolazione ambulatoriale afflitta al nostro laboratorio negli anni 2001, 2002 e 2003.

Materiali e Metodi Nel periodo compreso tra Gennaio 2001 e Maggio 2003 sono a noi pervenuti 316 campioni per i quali era stata richiesta la ricerca di Micoplasmi, isolata o associata a quella di altri organismi patogeni. Per l'identificazione e l'antibiogramma si è utilizzato il test Mycoplasma IST (bioMérieux) che consente la coltura, l'identificazione, la conta indicativa e l'antibiogramma di *Ureaplasma urealyticum* e *Mycoplasma hominis*.

Risultati Dei 316 campioni esaminati 82 (25,9%) sono

risultati positivi. Di questi 65 per *U.urealyticum*, 4 per *M. hominis* e 13 mostravano una coinfezione.

I campioni erano così distribuiti: 261 tamponi cervicali o vaginali (positività del 27,5%) e 55 tra tamponi uretrali maschili e liquidi seminali (positività del 18,1%).

In oltre il 50% dei casi di positività è stata osservata una associazione con altri agenti patogeni, soprattutto enterobatteriacee e *C.albicans*.

Per quanto riguarda la sensibilità agli antibiotici, la doxiciclina e la josamicina hanno mostrato una percentuale di sensibilità superiore al 99%, la eritromicina del 86% e l'ofloxacina del 77,5%.

Conclusioni Dai dati raccolti si evidenzia che l'isolamento di Micoplasmi, in particolare di *U.urealyticum* è un reperto frequente, soprattutto nel sesso femminile.

Degli antibiotici da noi presi in considerazione la doxiciclina e la josamicina hanno mostrato maggiore efficacia in vitro dell'eritromicina e dell'ofloxacina.

La complessità dell'ambiente vaginale e la frequente associazione dell'isolamento dei Micoplasmi con altre specie potenzialmente patogene suggerisce la necessità di ulteriori approfondimenti per stabilire il reale ruolo dei Micoplasmi nella genesi delle infezioni genito-urinarie e nella infertilità di coppia.

M040

IDENTIFICAZIONE E CARATTERIZZAZIONE DEI DETERMINANTI GENETICI DI ANTIBIOTICO-RESISTENZA IN CEPPI DI SALMONELLA ENTERICA DI ORIGINE ANIMALE

Pezzella C.¹, Villa L.¹, Ricci A.², Digianatale E.³, Luzzi I.¹ e Carattoli A.¹

¹Istituto Superiore di Sanità-Laboratorio di Batteriologia e Micologia Medica.

²Istituto Zooprofilattico delle Venezie.

³Istituto Zooprofilattico dell'Abruzzo e del Molise.

Nel settore zootecnico gli antibiotici sono largamente usati per la terapia e profilassi delle infezioni e come fattori di crescita. L'antibiotico-resistenza in patogeni isolati da animali è in continua crescita, specialmente in *Salmonella* spp.

In questo lavoro sono state analizzate le basi molecolari delle resistenze più frequenti osservate in 63 ceppi multiresistenti di *Salmonella enterica* isolati da animali d'allevamento e da alimenti d'origine animale, allo scopo di individuare determinanti genetici di resistenza ricorrenti e di studiarne l'eventuale localizzazione su elementi mobili. I ceppi analizzati appartengono a 19 sierotipi diversi e sono stati isolati dagli IZS delle Venezie e dell'Abruzzo e Molise. Tutti i ceppi selezionati mostrano resistenza ad almeno tre classi di antibiotici tra i quali la tetraciclina (98,4%) e la streptomina (95,2%). Su tutti i ceppi della collezione sono stati ricercati i geni di resistenza a tetraciclina e streptomina e ne è stata determinata la localizzazione su elementi trasponibili; inoltre, sono stati caratterizzati i plasmidi portatori delle resistenze.

I geni *tet(A)* (56%) e *strA-strB* (82%) sono stati individuati nella maggioranza dei ceppi resistenti alla tetraciclina e alla streptomina. Il 35% dei ceppi della collezione presenta integroni che codificano per resistenze multiple. I geni *tetA*, *strA-strB* e gli integroni mostrano localizzazione plasmidica nella maggior parte dei ceppi analizzati. Dall'analisi dei profili plasmidici si è osservata la presenza di due tipi di plasmidi ricorrenti, appartenenti ai gruppi IncI ed IncN, prevalenti in specifici sierotipi. In particolare, è stato caratterizza-

to un plasmide IncN che conferisce la resistenza a tetraciclina e streptomina ampiamente diffuso in ceppi di *S. Blockley* di origine aviaria. Un elemento trasponibile ritrovato prevalentemente nel sierotipo Hadar era stato precedentemente descritto solo in batteri patogeni delle piante.

I risultati di questo studio dimostrano l'importanza del trasferimento orizzontale tra batteri di origine diversa nell'acquisizione della resistenza agli antibiotici.

M041

DUE ANNI DI OSSERVAZIONE DELLE BATTERIEMIE: EPIDEMIOLOGIA ED EZIOLOGIA DEGLI ISOLATI IN RELAZIONE A DIVERSE AREE DI DEGENZA.

Usiglio D., Casini Lemmi M., Chisci R., Stepinska D., Lanata M., Mori M.

Struttura Complessa di Analisi Chimico-Cliniche e Microbiologiche "E. O. Ospedali Galliera", Genova.

Obiettivi: Dato l'elevato valore predittivo positivo e l'importanza, sia come strumento di sorveglianza delle infezioni ospedaliere che come indice di qualità dell'operatività interna, è stata svolta un'analisi retrospettiva dei dati riguardanti l'emocolture eseguite nell'ultimo biennio (2001-2002). A questo scopo sono stati utilizzati indici consolidati e confrontabili nel monitoraggio epidemiologico ed eziologico delle batteriemie, evidenziando soprattutto le differenze tra diverse aree di degenza.

Metodi: Sono state individuate tre aree di degenza: medicina (A.med), chirurgia (A.chir) e UTI. Le Batteriemie considerate significative erano quelle relative all'isolamento da emocoltura di un reale patogeno in relazione al numero dei prelievi eseguiti e alle evidenze cliniche. Sono state definite infezioni ospedaliere le batteriemie significative insorte almeno 72 ore dopo il ricovero ospedaliero, non manifeste clinicamente né in incubazione al momento dell'ammissione. Per l'incubazione dei flaconi da emocoltura è stato utilizzato il sistema BacT-Alert (Biomérieux).

Risultati: Sono stati studiati complessivamente 2735 episodi infettivi pari a 50,4 episodi/1000 ricoveri. Sono state diagnosticate 335 batteriemie significative pari al 12,2% degli episodi studiati. Le batteriemie polimicrobiche rappresentano il 2,7%. Le pseudobatteriemi sono risultate pari al 10,3%. Il tasso medio di batteriemie significative è stato di 6,6/1000 ricoveri, di cui 2,8 ospedaliere e 3,8 comunitarie (con significative differenze tra le diverse aree di degenza). Complessivamente si è osservata una prevalenza delle batteriemie comunitarie pari al 57,3%, le batteriemie ospedaliere (42,7%) sono prevalenti nell'A.chir e UTI. Sono stati individuati 344 microrganismi responsabili di batteriemie, nelle batteriemie comunitarie prevalgono i gram negativi (54,5%), nelle batteriemie ospedaliere prevalgono i gram positivi (54%) e i lieviti (11,5%) soprattutto nell'A.chir e UTI.

Conclusioni: I rilievi epidemiologici, in termini di numero di episodi infettivi e batteriemie significative in relazione al numero dei ricoveri, sono confrontabili a quelli osservati in studi analoghi nazionali e internazionali. Il preoccupante dato delle pseudobatteriemi ha sollecitato interventi mirati del CIO. I dati eziologici hanno messo in risalto le differenze tra diverse aree di degenza e il ruolo emergente degli stafilococchi coagulasi negativi e dei lieviti come causa di "batteriemia ospedaliera CVC correlata" (soprattutto nell'A.chir e in UTI).

M042

ANALISI DELLA SENSIBILITÀ AGLI ANTIBIOTICI NEI MICRORGANISMI ISOLATI DALLE EMOCOLTURE (2001-2002)

Usiglio D., Casini-Lemmi M., Resta M.A., Locca M., Lanata M., Mori M.

Struttura Complessa di Analisi Chimico-Cliniche e Microbiologiche "E.O. Ospedali Galliera", Genova

Obiettivi Valutare la sensibilità agli antibiotici nei microrganismi causa di batteriemia significativa nel biennio (2001-2002). Rilevare le differenze tra isolati da batteriemie ospedaliere e comunitarie con particolare attenzione ai meccanismi di resistenza emergenti.

Metodi Batteriemie considerate significative erano quelle relative all'isolamento da emocoltura di un reale patogeno in relazione al numero dei prelievi eseguiti e alle evidenze cliniche. Sono state definite infezioni ospedaliere le batteriemie significative insorte almeno 72 ore dopo il ricovero ospedaliero, non manifeste clinicamente né in incubazione al momento dell'ammissione. Per l'esecuzione dell'antibiogramma è stato utilizzato routinariamente il sistema Sceptor (Becton Dickinson) con pannelli breakpoint, per isolati particolari e verifiche dei meccanismi di resistenza sono stati utilizzati: antibiogrammi manuali (Kirby-Bauer), MIC con E-Test (Biodisk), oxacillin e vancoscreen agar.

Risultati e Conclusioni Complessivamente sono stati evidenziati buoni livelli di sensibilità, nonostante la necessaria attenzione verso alcuni meccanismi di resistenza (Esbl, Vancoresistenza, Meticillinoresistenza). Si è osservata spesso una minor sensibilità agli antibiotici nei ceppi comunitari rispetto agli ospedaliere, spiegabile in parte considerando le provenienze dalle spedalizzazioni territoriali o dalle istituzioni per lungodegenti, l'aumento delle cateterizzazioni e dei turnover dei ricoveri, tutti elementi che favoriscono la circolazione di ceppi "ospedaliere" anche in comunità.

Nelle *Enterobacteriaceae*, carbapenemici e amikacina sono risultati gli antibiotici con le percentuali più alte di sensibilità. In *Proteus* si evidenzia maggiormente il fenomeno dei ceppi produttori di Esbl (35% degli isolati) associata a multi-resistenza. Nei bacilli gram negativi non fermentanti si è osservato alte percentuali di sensibilità ai carbapenemici e amikacina, livelli inferiori per ceftazidime. Negli Stafilococchi aurei la meticillina resistenza (60% nei ceppi ospedaliere) e in misura minore negli Stafilococchi coagulasi negativi (meticillina resistenza 77% nei ceppi ospedaliere) si è rilevata spesso multi-resistenza associata per macrolidi, aminoglicosidi fluorochinoloni e clindamicina. Tutti gli stafilococchi mostravano elevate percentuali di sensibilità ai glicopeptidi. Tutti gli Streptococchi isolati hanno dimostrato buone percentuali di sensibilità agli antibiotici testati (soprattutto beta-lattamici). Per quanto riguarda gli Enterococchi sia *E.faecalis* che *E.faecium* mantengono alte percentuali di sensibilità per i glicopeptidi (nonostante l'aumento degli isolamenti di ceppi VRE) e per gli aminoglicosidi.

M43

HELICOBACTER PYLORI: STUDIO DI PREVALENZA ANTICORPI ANTI CagA SU UNA POPOLAZIONE POSITIVA PER LE IgG ANTI HP.

La Mancusa R., Paparella C., Spano' A.

Servizio di Microbiologia, Virologia ed Immunologia -
Ospedale Sandro Pertini, Via Tiburtina 385 00157 - Roma

La patogenesi dell'ulcera duodenale ha subito negli ultimi anni una serie di innovazioni in campo eziologico grazie allo sviluppo di nuove tecniche diagnostiche in grado di accertare la presenza dell'*Helicobacter pylori* nella mucosa gastro-duodenale. Tali esami forniscono al paziente una migliore accuratezza e specificità nella risposta unite ad una minore invasività dell'indagine.

La precocità della diagnosi porta ad una più rapida eradicazione dell'infezione con la prevenzione di eventuali danni da ulcera gastrica, ulcera duodenale, atrofia e non ultimo con la prevenzione dell'evoluzione in carcinoma.

In ceppi ureasi negativi di Hp si verifica la produzione di una citotossina vacuolizzante, la vacA, e si è dimostrato che la produzione di questa tossina si associa alla presenza di una proteina chiamata CagA.

Studi successivi hanno dimostrato come la causa diretta del danno gastrico sia da attribuirsi alla tossina vacA mentre la capacità di discernere facilmente nel siero i ceppi produttori tale tossina sia da attribuirsi alla proteina CagA ad essa associata ed avente alto potere immunogeno.

Se la positività per Hp incrementa di quasi 3 volte la probabilità di cancro gastrico, la positività in questi soggetti per anticorpi contro un antigene di circa 120 kD (proteina CagA) ne aumenta il rischio sino ad una probabilità 6 volte maggiore.

Visto il notevole incremento di richieste per anticorpi anti Hp presso il nostro laboratorio abbiamo voluto valutare in quale percentuale tra sieri Hp positivi si trovassero ceppi che esprimevano la proteina CagA su di una popolazione tipo (studio di prevalenza).

Lo studio è stato effettuato solo sui sieri dei pazienti che mostravano una netta e massimale positività per la presenza di anticorpi anti Hp.

Per la ricerca di entrambe gli anticorpi (anti Hp ed anti CagA) nel nostro laboratorio abbiamo utilizzato metodiche EIA applicate su apparecchio automatico.

Una percentuale di questi pazienti è stata, inoltre, da noi studiata anche per la ricerca dell'antigene Hp nelle feci ottenendo risultati che ci hanno consentito di valutare l'affidabilità dei tests rispetto alla prognosi della malattia.

M044

STREPTOCOCCO β -EMOLITICO DI GRUPPO B: UN ANNO DI ESPERIENZA PRESSO IL NOSTRO LABORATORIO. DATI PRELIMINARI.

Fianchino B., Del Re S., Faraoni S., Castelli L., De Paola M., Gregori G., Sergi G., Abozzi M.P., Milano R.

Dipartimento di Diagnostica di Laboratorio, U.O. Microbiologia,
Ospedale Amedeo di Savoia, Torino

Lo Streptococco β -emolitico di gruppo B (GBS) è uno dei principali agenti di infezione neonatale.

Approssimativamente il 10-30% delle donne in gravidanza risulta essere colonizzata a livello vaginale e/o rettale da questo microrganismo. L'infezione nel neonato viene acquisita per contatto diretto durante il passaggio attraverso il canale del parto. Allo scopo di identificare le donne eventualmente colonizzate e candidate alla profilassi intrapartum, è quindi importante effettuare uno screening tra la 35-37ma settimana di gestazione.

Scopo del lavoro

Abbiamo voluto valutare la frequenza di isolamento dello Streptococco β -emolitico di gruppo B (GBS) nella popolazione di donne gravide afferenti al nostro Laboratorio.

Materiali e metodi

Nel periodo compreso tra Novembre 2002 e Maggio 2003, su un campione di 211 donne gravide tra la 35esima e la 37esima settimana di gestazione sono stati eseguiti un tampone vaginale ed un tampone perianale. I campioni sono stati seminati direttamente su piastre di CNA (Bio Merieux) e incubati in atmosfera di CO₂ al 5% per 24-48 h. Sui ceppi di GBS isolati è stato effettuato l'antibiogramma con il sistema automatico Vitek 2 (Bio Merieux).

Risultati

La frequenza di isolamento di GBS riscontrata è stata del 13%, in accordo con quanto segnalato in letteratura. Dal confronto dei risultati ottenuti è emerso che non tutte le donne sono positive ad entrambi i tipi di prelievo: il 11% delle donne risulta positiva solo al prelievo vaginale, il 63% solo al prelievo perianale, e il 26% ad entrambi. Inoltre è stato evidenziato che il 30% delle pazienti con isolamento positivo presenta sintomatologia quale prurito, bruciore e leucorrea. I ceppi isolati sono risultati sensibili al 96% alla penicillina, al 92% ad eritromicina e clindamicina e al 100% alla vancomicina.

Conclusioni

Sulla base dei risultati ottenuti possiamo ritenere importante eseguire entrambi i prelievi per un corretto screening.

M045

IDENTIFICAZIONE DI RESISTENZE AGLI ANTIBIOTICI BEN CARATTERIZZATE MEDIANTE SISTEMA URO-QUICK

Roveta S., Marchese A., Debbia E.A.

Sezione di Microbiologia - DISCAT
Università degli Studi di Genova,
Largo Rosanna Benzi 10 - I-16132 Genova

Obiettivi: il sistema Uro-Quick, già sperimentato per la valutazione della sensibilità agli antibiotici su campioni d'urina, è stato utilizzato per accertare su ceppi ben caratterizzati fenotipi di resistenze di non facile identificazione.

Metodologia: ciascun antibiotico da saggiare è stato aggiunto direttamente nella cuvetta Uro-Quick, le concentrazioni sono state calcolate in base ai breakpoints suggeriti dall'NCCLS. I ceppi in esame sono stati inoculati con una carica compresa tra 5×10^5 e 1×10^6 CFU/mL. La lettura è stata effettuata dopo un intervallo di tempo variabile in funzione delle caratteristiche del ceppo considerato.

Risultati: dopo un'incubazione di 180 minuti Uro-Quick ha riconosciuto correttamente stipiti di *Escherichia coli* resistenti all'ampicillina e refrattari agli inibitori delle β -lattamasi, produttori di β -lattamasi a spettro esteso (ESBL) e resistenti alla ciprofloxacina. Dopo 360 minuti è stato possibile rilevare la resistenza agli aminoglicosidi in *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens* ed *Enterobacter cloacae*. Un periodo di incubazione di 480

minuti ha consentito di caratterizzare *Staphylococcus aureus* produttore di penicillinasi, *S. aureus* e *S. epidermidis* resistenti all'oxacillina (OXA-R), *Streptococcus pyogenes* resistente all'eritromicina (Ery-R) con i tre fenotipi costitutivo (C), inducibile (I) ed efflusso (M). *S. haemolyticus* teicoplanino-resistente, *Enterococcus faecalis* con fenotipo VanA, VanB o resistente ad alto livello agli aminoglicosidi (HLAR), *E. gallinarum* VanC hanno richiesto un'incubazione di 24 ore. Stesso tempo è stato necessario per la valutazione di *Pseudomonas aeruginosa* resistente all'imipenem.

Conclusioni: i dati ottenuti con lo strumento Uro-Quick sia sui ceppi gram-positivi che su quelli gram-negativi per l'identificazione dei meccanismi di resistenza più importanti per ciascuna specie hanno dimostrato totale concordanza con i dati ottenuti utilizzando i metodi tradizionali.

M046

PREVALENZA DI ENTEROBATTERI PRODUTTORI DI ESBL ISOLATI PRESSO IL LABORATORIO ANALISI DEL P.O. BISCEGLIE

Venitucci C.¹; de Candia G.¹; Doronzo A.R.¹; Saponaro M.²

¹ Laboratorio Analisi, Ospedale civile "Vittorio Emanuele II", 70052 Bisceglie - AUSL BA/2

² Laboratorio Analisi, Ospedale civile "Umberto I", 70051 Barletta - AUSL BA/2

Introduzione. L'introduzione nella pratica terapeutica degli antibiotici β -lattamici ad ampio spettro e dei monobattamici, ha facilitato il trattamento delle infezioni più gravi sostenute dagli Enterobatteri. Negli ultimi anni la pressione selettiva esercitata dall'uso indiscriminato di cefalosporine a largo spettro, ha favorito la selezione di ceppi produttori di enzimi - ESBL - in grado di idrolizzare queste molecole ed i monobattamici, mentre resistono all'idrolisi carbapenemici e cefamicine.

Scopo della ricerca. L'identificazione di ceppi produttori di ESBL è molto importante perché fornisce informazioni indispensabili per la terapia del paziente, con scelta di trattamenti antibiotici alternativi, se necessario.

Materiali e metodi. Sono stati esaminati 177 ceppi di Enterobatteri, considerati potenzialmente produttori di ESBL relativamente a criteri di screening, isolati da vari materiali biologici pervenuti sia da pazienti ricoverati che da pazienti ambulatoriali. I ceppi sono stati sottoposti a metodiche di conferma di produzione di ESBL: tecnica dei dischi ravvicinati

Risultati. Riportati nella seguente tabella:

Prevalenza di stipti produttori di ESBL per specie			
CEPPI SAGGIATI		ESBL positivi	PREVALENZA
Citrobacter freundii	4	1	25 %
Enterobacter agglomerans	2	0	0
Enterobacter aerogenes	5	2	40 %
Enterobacter cloacae	7	2	28,6 %
Escherichia coli	111	7	6,3 %
Klebsiella oxytoca	8	3	37,5 %
Klebsiella pneumoniae	15	6	40 %
Morganella morganii	3	0	0
Proteus mirabilis	15	4	26,7 %
Proteus vulgaris	2	0	0
Providencia stuartii	1	0	0
Salmonella typhi	2	0	0
Serratia marcescens	1	0	0
Shigella sonnei	1	0	0
Totale enterobatteri	177	25	14,1 %

Conclusioni. Da questo studio emerge la circolazione di Enterobatteri produttori di ESBL nel nostro laboratorio pari al 14.1% sul totale dei ceppi potenzialmente produttori di ESBL e ciò suggerisce l'uso della ricerca specifica di ESBL da affiancare all'antibiogramma allo scopo di prevenire insuccessi terapeutici. Tale stima sicuramente comprende limiti dovuti a statistica ridotta.

M047

INFEZIONI GENITALI NELLA COPPIA INFERTILE

Podda R., Porcu P.P., Sanna M.

Laboratorio Analisi Chimico Cliniche e Microbiologia - Ospedale Oncologico "A. Businco - Cagliari

Presso il nostro laboratorio vengono effettuati gli esami microbiologici relativi alle coppie infertili afferenti al Centro per il Controllo della Sterilità. Scopo del nostro lavoro è valutare l'incidenza di infezioni genitali in questa popolazione.

Materiali e metodi

Nel corso del 2002 sono stati esaminati 2062 tamponi vaginali e 1283 liquidi seminali. Tutti i campioni sono stati seminati su Agar cioccolato, MacConkey, MSA e Sabouraud (Microbiol). I campioni risultati positivi sono stati identificati con sistema Vitek della BioMerieux.

Risultati

I campioni vaginali risultati positivi sono stati 874 (42%) così rappresentati: 519 Gram negativi (59%), 119 Gram positivi (14%) e 236 miceti (27%) .

I microrganismi isolati più di frequente sono stati: *E. coli* (40%), *C. albicans* (14%), *K. pneumoniae* (11%), *C. glabrata* (7%), *S. agalactiae* (4%), *E. faecalis* (3%), *S. cerevisiae* (3%) e *S. aureus* (3%).

I campioni di liquido seminale positivi sono stati 333 (26%), in questo modo suddivisi: 263 Gram negativi (79%), 66 Gram positivi (20%) e 4 miceti (1%).

In particolare sono stati isolati: *E. coli* (50%), *S. aureus* (7%), *K. pneumoniae* (6%), *P. mirabilis* (6%), *M. morganii* (6%), *E. faecalis* (4%) e *Ps. aeruginosa* (3%).

Conclusioni.

I risultati mostrano che nella donna la percentuale di positività è maggiore che nell'uomo; la causa di ciò è probabilmente da ricondurre alla particolare conformazione dell'apparato genitale femminile, più facilmente esposto alle infezioni soprattutto da parte di microrganismi endogeni. E' notevole anche la diversa frequenza dei microrganismi implicati nelle infezioni nei due sessi; in particolare si evidenzia nella donna rispetto all'uomo una incidenza molto elevata di miceti e di *S. agalactiae* e viceversa nell'uomo rispetto alla donna una maggiore incidenza di *E. coli*, dei germi del genere *Proteus* e di *S. aureus*.

M048

POSSIBILITÀ DI VALUTAZIONE MICROBIOLOGICA PRECOCE DI BATTERIEMIA.

Del Gaudio T., Porzio M., Miragliotta G.*

Laboratorio Analisi P.O. di Andria AUSL BA/1

*Cattedra di Microbiologia, Dipartimento MIDIM, Università di Bari.

Il tempo di esecuzione dell'emocoltura può rappresentare causa di ritardo per l'instaurazione della terapia antibiotica

mirata. Nel nostro studio proponiamo una possibile maniera di fornire al clinico dati preliminari sui microrganismi responsabili di batteriemie e la loro sensibilità agli antimicrobici. A tal fine, per i campioni rivelatisi positivi con il sistema in uso nel nostro laboratorio (BACTEC 5050, Becton Dickinson), oltre alle consuete subculture, utilizzando direttamente la brodocoltura sono stati allestiti due vetrini per esame batterioscopico, nonché è stata seminata una piastra di agar Muller-Hinton per l'esecuzione di un antibiogramma secondo Bauer-Kirby. Sono state eseguite quindi due colorazioni, rispettivamente con il metodo di Gram e con blu di metilene; per l'antibiogramma manuale sono stati testati, in base alla colorazione di Gram, otto antibiotici, uguali a quelli utilizzati per l'antibiogramma automatizzato (VITEK, bioMérieux). Sono stati presi in considerazione 46 campioni positivi (27 stafilococchi, 15 bacilli Gram negativi, 2 miceti, 1 *L. monocitogenes*, 1 *N. meningitidis*), sui quali sono stati eseguiti 40 antibiogrammi con metodo automatizzato. In tutti i campioni la morfologia e le caratteristiche tintoriali evidenziate dai vetrini sono state confermate dalla definitiva identificazione. La corrispondenza tra i risultati dell'antibiogramma secondo Bauer-Kirby e quello automatizzato, sono esposti nella tabella seguente.

GRAM-NEGATIVI		GRAM-POSITIVI	
Antibiotico	Corr. (%)	Antibiotico	Corr. (%)
Piperacillina	92	Penicillina	100
Aztreonam	100	Oxacillina	100
Ceftazidime	92	Vancomicina	100
Amox.+ ac.clav	92	Eritromicina	85
Imipenem	84	Ciprofloxacina	85
Ciprofloxacina	92	Teicoplanina	96
Co- trimossazolo	100	Clindamicina	92
Tobramicina	100	Cefalotina	100

Sulla base della concordanza tra i dati preliminari e quelli definitivi, il protocollo da noi utilizzato permette di fornire al clinico, in tempi ridotti rispetto a quelli di routine e con una buona attendibilità, informazioni sia sulla natura dei microrganismi responsabili delle batteriemie che sulla loro sensibilità agli antibiotici.

M049

EFFICACIA DI UNA FORMULAZIONE CONTENENTE PRO-ANTIOSSIDANTI COME COADIUVANTE NEL TRATTAMENTO DELLE INFEZIONI BATTERICHE CUTANEE

De Luca C.; Mikhal'chik E.; Kharaeva Z.; Luci A.; Korkina L.

Istituto Dermatopatico dell'Immacolata, IRCCS,
Via Monti di Creta 104, 00167, Roma
Dept. Molecular Biology, Russian State Medical University,
Ostrovityanova 1, Moscow 117513, Russia

Il ruolo chiave delle specie reattive dell'ossigeno (ROS) e dell'azoto (RNS) prodotte dai fagociti nella immunità aspecifica antibatterica è ampiamente descritto. ROS ed RNS, principalmente ipoclorito, idrossil radicale e perossinitrito, uccidono i batteri nel milieu extracellulare, e ne facilitano la digestione intracellulare. L'eccessivo rilascio di radicali contribuisce tuttavia al danno infiammatorio cellulare e tissutale. Abbiamo quindi ipotizzato che una formulazione efficace nel potenziare l'immunità antibatterica debba contenere molecole che stimolino una moderata produzione di ROS/RNS, in associazione ad antiossidanti che proteggano leucociti e tessuti dell'ospite dal danno ossidativo.

Le proprietà pro/antiossidanti di Immugen® (IDI Farmaceutici Srl, Pomezia) e delle sue componenti (ubichinone, a-tocoferolo, L-metionina, selenio aspartato, fosfolipidi di soia) sono state studiate *in vitro* ed *ex vivo* con EPR, chemiluminescenza, sonde fluorescenti, spettrofotometria. I risultati hanno dimostrato le proprietà scavenger/antiossidanti di ubichinone e vitamina E, e il marcato effetto pro-ossidante, stimolante la generazione intracellulare di radicali, di metionina e fosfolipidi polinsaturi.

L'infezione stafilococcica nello stadio acuto deprime la produzione intra-leucocitaria di ROS, e favorisce il rilascio extracellulare di radicali. A questo contesto pro-ossidante, l'organismo risponde in *maniera adattativa* con l'induzione dei sistemi di difesa antiossidanti. *In vitro* l'incubazione dei leucociti dei pazienti in presenza di IL-1 beta o IFN-gamma ricombinanti potenzia la produzione intra-leucocitaria dei ROS e l'efficienza della fagocitosi, e inibisce il rilascio extracellulare di radicali. Il presente studio documenta l'efficacia della somministrazione di Immugen® (4 cps/die) come coadiuvante della terapia antibiotica e disintossicante, nelle infezioni stafilococciche (angina, 60 pazienti e flemmoni/ascessi, 58 pazienti). L'associazione potenziava in modo specifico la risposta immunitaria all'agente batterico, con aumento della produzione di ROS/RNS battericidi, soprattutto intracellulare, e dell'indice di fagocitosi. La citotossicità dei radicali nel focolaio infiammatorio era altresì controllata nei leucociti stessi da una incrementata dell'attività degli enzimi antiossidanti (superossido dismutasi, catalasi) e dall'aumento della frazione antiossidante plasmatica.

M050

ATTIVITA' DEI MACROLIDI A 14, 15 E 16 ATOMI DI CARBONIO VS STAPHYLOCOCCUS AUREUS

Ferrari Lucio

Laboratorio di Microbiologia,
Azienda Istituti Ospitalieri di Cremona

Introduzione

Con questo studio si è voluta verificare l'attività *in vitro* dei macrolidi a 14, 15 e 16 atomi di carbonio Vs *Staphylococcus aureus*.

Materiali e metodi

E' stata valutata l'attività di Eritromicina, Claritromicina, Azitromicina e Rokitammina verso 512 ceppi di *St. aureus* Meticillino Sensibile (MSSA) e 187 ceppi di *St. aureus* Meticillino Resistente (MRSA).

Sono stati utilizzati ceppi batterici provenienti dalle divisioni del nostro ospedale e dagli ambulatori ai quali afferiscono i pazienti esterni.

La determinazione della sensibilità a Eritromicina (E), Claritromicina (CLR), Azitromicina (AZM) e Rokitammina (ROK) è stata effettuata mediante antibiogramma secondo il metodo di Kirby Bauer, in piastre di Mueller Hinton Agar.

L'interpretazione è stata effettuata valutando il diametro delle aree di inibizione come suggerito dall'NCCLS.

Risultati

Dallo studio si evidenzia una notevole attività dei macrolidi a 14 e 15 atomi di Carbonio Vs MSSA (88.7%). Ancora più brillante si dimostra l'attività dei macrolidi a 16 atomi (di poco inferiore al 97%).

Mentre è la scarsa l'attività dimostrata da tutte le molecole impiegate Vs gli MRSA (vicina al 30%).

Conclusioni

Essendo i macrolidi molecole attive Vs numerosi patogeni delle vie respiratorie, quali *Mycoplasma pneumoniae*,

Legionella pneumophyla, *Moraxella catarrhalis* ed altri, essi rappresentano importanti presidi terapeutici nel trattamento delle infezioni dell'apparato respiratorio e spesso vengono utilizzati sia nel paziente adulto, che pediatrico, come terapia empirica d'attacco. La buona attività dimostrata nei confronti di MSSA può conferire maggior tranquillità al clinico che impieghi tali molecole proprio in terapia empirica, in attesa dei dati microbiologici definitivi.

M051

RUOLO DELL'*HAEMOPHILUS PARAINFLUENZAE* NELLE RIACUTIZZAZIONI DELLE BPCO.

Barbaro P., Petraroli C., Rogolino B., Sergi D.
Agati G.*, Scaramozzino A.*

Azienda Ospedaliera "Bianchi-Melacrino-Morelli" Reggio Calabria

U. O. di Patologia Clinica Ospedale Morelli

* U. O. di Broncopneumotisiologia Ospedale Morelli

Introduzione Le riacutizzazioni della bronchite cronica vengono definite in termini clinici, come "modificazioni qualitative dell'espettorazione, aumento delle secrezioni bronchiali e viraggio purulento, eventualmente associate ad accentuazione della tosse e della dispnea". Circa il 50% sarebbero di natura infettiva batterica, ed il 25-50% circa di origine virale. I due dati si sovrappongono in quanto diversi casi di infezione batterica sono riportati preceduti da una infezione virale. I patogeni tradizionalmente considerati principali responsabili di tali riacutizzazioni sono lo *S. pneumoniae*, l'*H. influenzae* non capsulato, la *M. catarrhalis*, ma non si può escludere a nostro avviso, che la colonizzazione bronchiale da parte di specie tradizionalmente considerate saprofiti, non possa essere di importanza patogenetica nelle bronchiti croniche e nella BPCO. Le osservazioni di questo studio, si prefiggono lo scopo di dare un contributo alla determinazione del ruolo non ben definito dell'*Haemophilus parainfluenzae*, come responsabile della patogenesi infettiva della BPCO.

Materiali e Metodi Nel periodo di osservazione compreso tra ottobre 2001 e dicembre 2002, sono stati presi in considerazione 842 campioni di espettorato, rappresentanti il primo campione raccolto subito dopo il ricovero, da pazienti affetti da malattia broncostruttiva in fase di riacutizzazione, secondo i criteri di Anthonisen, e ritenuti rappresentativi del focolaio d'infezione secondo i criteri di Bartlett. I campioni sono stati processati per l'isolamento dei potenziali patogeni secondo le metodiche convenzionali, e sono state considerate significative cariche batteriche $\geq 10^6$ CFU/ml. La ricerca delle β -lattamasi è stata eseguita mediante l'utilizzo di dischetti impregnati di cefalosporina cromogena, Nitrocefina. Età media dei pazienti 75 ± 10 anni.

Risultati Sugli 842 campioni di espettorato sono stati isolati 1148 microrganismi verosimilmente responsabili dei fenomeni di riacutizzazione; 541 Gram negativi (47.1%), 344 Gram positivi (30.0%), 263 *Haemophilus spp* (23.0%). *H. parainfluenzae* è risultato responsabile del 24.7% delle riacutizzazioni con 208 isolamenti, di cui il 15.2% degli isolati (128) in coltura pura, e l'8.9% (75) associati ad altri batteri.

Conclusioni Anche se queste osservazioni scaturiscono da risultati ottenuti in un'area geografica ben definita, -la presenza in questi microrganismi come in altri batteri Gram negativi di fattori di patogenicità come la produzione di enzimi litici sulle IgAs, che danneggiando l'epitelio ciliato, favoriscono la colonizzazione delle superfici delle mucose respiratorie, nonché l'attività emolitica e la produzione di istami-

na, -la non trascurabile percentuale di isolamenti 24.7%, di cui il 15.2% in coltura pura, -le valutazioni clinico-terapeutiche sul paziente prima e dopo l'isolamento, correlate e validate dalle osservazioni dei Colleghi della Divisione di Broncopneumotisiologia, -l'esperienza del nostro Ospedale, relativa non solo al periodo considerato ma svolta nel corso dell'ultimo decennio in pazienti bronchitici cronici, ci portano ad ipotizzare un ruolo sicuramente patogenetico svolto da questo microrganismo nelle riacutizzazioni infettive della BPCO, in contrasto con l'accettata patogenicità relativa all'*H. influenzae* non capsulato e, contrariamente a quanto riportato da AA sul ruolo poco chiaro dell'*H. parainfluenzae* come responsabile della riacutizzazione infettiva della BPCO.

M052

CHLAMYDIA TRACHOMATIS: CINQUE ANNI DI ESPERIENZA NEL NOSTRO LABORATORIO (DATI PRELIMINARI).

Fianchino B., Del Re S., Gregori G., Faraoni S., Castelli L., De Paola M., Sergi G., Grasso G., Milano R.

Dipartimento di Diagnostica Di Laboratorio,

U.O. Microbiologia, Ospedale Amedeo di Savoia, Torino

Introduzione. *Chlamydia trachomatis* è un batterio gram negativo immobile, parassita intracellulare obbligato delle cellule eucariote.

È uno dei principali patogeni responsabili di infezioni trasmesse sessualmente. Può causare uretriti e proctiti, cervicitì, salpingiti, malattia infiammatoria pelvica e può essere causa di sterilità.

Scopo del lavoro. Si è voluta analizzare la variazione della positività all'infezione da *Chlamydia trachomatis* su campioni pervenuti nel periodo compreso tra gennaio 1998 e dicembre 2002, valutando l'eterogeneità della popolazione da cui provenivano: pazienti a rischio (sieropositivi, omosessuali, prostitute) e non esposti a particolari fattori di rischio (pazienti con sospette vaginiti, portatrici di IUD, candidate alla fecondazione assistita).

Materiali e metodi. La ricerca di *Chlamydia trachomatis* è stata eseguita su tamponi uretrali, tamponi endocervicali, urine e liquido seminale utilizzando una metodica di amplificazione di PCR qualitativa (kit AMPLICOR CT/NG, Roche Diagnostic System-NJ, USA).

È un test multiplex che permette la contemporanea amplificazione del DNA bersaglio di *Chlamydia trachomatis* e di *Neisseria gonorrhoeae*. In questo studio sono stati presi in considerazione solo i dati relativi a *Chlamydia trachomatis*; quelli relativi a *Neisseria gonorrhoeae* saranno oggetto di altra valutazione. La rivelazione è stata ottenuta tramite reazione colorimetrica in seguito ad ibridazione dei prodotti amplificati con sonde oligonucleotidiche specifiche per il bersaglio. Tutta la metodica è stata eseguita utilizzando lo strumento COBAS AMPLICOR (Roche Diagnostic System-NJ, USA).

Risultati. Nell'arco di tempo sopra indicato sono stati processati 5380 campioni, che presentavano una percentuale di positività media del 4,92%. Valutando ogni singolo anno si è riscontrata un'oscillazione della positività da un minimo del 3,23% (nel 1998) ad un massimo 6,64% (nel 1999).

Ci riserviamo di presentare un'analisi più approfondita della distribuzione dei dati in nostro possesso in base alla provenienza, sesso e razza dei pazienti ed alla eventuale presenza di fattori di rischio.

M053

LA RESISTENZA ALLA COLONIZZAZIONE DI CATETERI MEDICATI CON ARGENTO-SULFADIAZINA E CLOREXIDINA

Monzillo V.; Lanzarini P.; Corona S.; Tamburnotti C.; Marone P.

Dipartimento di Malattie Infettive, IRCCS S.Matteo, Università di Pavia, Pavia

In questi ultimi anni sono state impiegate due principali strategie nella prevenzione delle infezioni legate all'utilizzo di cateteri: la messa a punto di biomateriali con bassa affinità per i microrganismi usando metodiche chimico-fisiche e l'incorporazione di principi attivi quali antisettici ed antibiotici nei polimeri per ridurre l'adesione dei batteri alle superfici.

Nel nostro studio abbiamo valutato l'adesione in vitro di stafilococchi a cateteri in poliuretano ricoperti con argento-sulfadiazina e clorexidina. E' stata studiata comparativamente l'adesività di un ceppo di *Staphylococcus epidermidis* produttore di slime a cateteri trattati e non con antimicrobici. Frammenti di cateteri di 5 mm di lunghezza sono stati messi a contatto con una brodocoltura overnight di *S.epidermidis* slime-produttore diluita 1:1000 in TSB addizionato di 0.25 % di casaminoacido. Dopo 24 h di incubazione a 37 °C i cateteri sono stati rimossi dalla brodocoltura, lavati, sonicati e il liquido di sonicazione è stato opportunamente diluito per la conta su terreno solido. L'esperimento è stato eseguito in quadruplo. Un quinto frammento di catetere, dopo incubazione, è stato processato per l'osservazione al microscopio elettronico a scansione. Parallelamente altri frammenti di cateteri sono stati incubati a 37°C in PBS che è stato sostituito giornalmente fino al momento dell'infezione. Il PBS rimosso veniva congelato a -20°C per la valutazione dell'attività antibatterica. I cateteri in PBS venivano infettati dopo 24 h - 48 h - 7 gg - 14 gg -21 gg - 28 gg di incubazione. I risultati da noi ottenuti dimostrano chiaramente che il trattamento dei cateteri con argento-sulfadiazina e clorexina riduce notevolmente, a tutti i tempi considerati, la formazione di biofilm da parte di *S.epidermidis* slime-produttore. Il numero dei microrganismi adesi ai frammenti di catetere non trattato varia da 2×10^5 a 9×10^5 batteri per frammento ai diversi tempi. Al contrario nelle prime 48 ore non è stata evidenziata adesione di nessun microrganismo ai cateteri trattati e solo dopo 4 settimane il numero di stafilococchi adesi arrivava a 103 per frammento. L'attività antibatterica del PBS contenente gli agenti antimicrobici rilasciati dai frammenti di catetere ai vari tempi è stata calcolata come la massima diluizione in grado di inibire la crescita del ceppo di *S.epidermidis* utilizzato per lo studio, ed era pari ad 1:16 dopo 24 ore di incubazione, ad 1:4 dopo 48 ore e ad 1:2 dopo 96 ore.

Le osservazioni mediante microscopia elettronica a scansione hanno sostanzialmente confermato i dati ottenuti nello studio in vitro. In conclusione i cateteri trattati con antimicrobici hanno mostrato una minor affinità per gli stafilococchi rispetto ai cateteri non trattati.

M054

VALUTAZIONE DI UN NUOVO TEST COLORIMETRICO PER LA RILEVAZIONE DEL POTERE ANTIBATTERICO RESIDUO NELLE URINE

Tizianel G., Boschian M., Bruschetta G., Favero L., Zigante P., Camporese A.

S.O. di Microbiologia Clinica e Terapia Antibiotica Azienda Ospedaliera "S.Maria degli Angeli" - Pordenone

La valutazione del Potere Antibatterico Residuo (PAR) consente di rilevare la presenza di un antimicrobico nei liquidi biologici. Esistono attualmente sul mercato diversi metodi per l'esecuzione del PAR TEST che utilizzano differenti substrati e le più varie metodologie, più o meno pratiche e più o meno automatizzabili nella routine diagnostica. Nel nostro laboratorio viene utilizzato attualmente un metodo *in house* costituito da due piastre di agar germi, l'una inoculata con un ceppo ATCC 25923 di *Staphylococcus aureus* Oxford, FDA approved, e l'altra inoculata con un ceppo ATCC 25922 di *Escherichia coli* FDA approved, entrambe validati da NCCLS per i test di sensibilità in vitro.

Nel test attualmente in uso nel nostro laboratorio, in ciascuna piastra di agar germi sono scavati 8 pozzetti, in ognuno dei quali vengono depositati 50 microlitri dell'urina in esame. La lettura viene eseguita dopo 18 ore valutando l'eventuale presenza di un alone di inibizione intorno al pozzetto in cui è stato depositato il campione. In caso di presenza di alone in almeno una delle due piastre di agar germi il PAR è considerato positivo, mentre in assenza di aloni in entrambe le piastre il PAR test viene considerato negativo. Per migliorare il flusso di lavoro del nostro laboratorio, che esegue circa 18.000 urinocolture l'anno comprensive di PAR test, è stato valutato un nuovo test colorimetrico per l'individuazione del potere antibatterico residuo, prodotto e distribuito dalla ditta DIESSE di Siena.

In questo test, spore di *Bacillus subtilis* ATCC 6633, scelte per la loro sensibilità a tutti gli antibiotici, vengono essiccate in pozzetti contenenti il terreno, costituito da Eugon broth addizionato con agar e tetrazolio e un indicatore di crescita. Il campione di urina inoculato ripristina il terreno. La micropiastra, costituita da una serie di strips per un totale di 48 pozzetti, è sezionabile in modo da consentire all'operatore di distribuire il numero di test in base alle necessità dei flussi di lavoro del laboratorio. Una volta inoculata con i vari campioni di urina, la micropiastra viene sigillata con un foglio adesivo in dotazione e incubata a 37°C per 18 ore. La lettura ottica consente di considerare negativi i campioni nei quali si sviluppa un pigmento rosso (qualsiasi minima evidenza di viraggio del substrato è da considerarsi come risultato negativo), mentre sono considerati positivi quei campioni nei quali il terreno rimane di colore giallo: il viraggio del colore dei pozzetti negativi è riferibile, infatti, alla crescita di *Bacillus subtilis* con il conseguente viraggio dell'indicatore colorimetrico.

Abbiamo testato in diverse sessioni un totale di 537 campioni di urina ottenuti da pazienti ricoverati e ambulatoriali. Per verificare l'attendibilità del test, le urine sono state seminate in doppio sia su micropiastra sia sulle due piastre di agar germi utilizzate di routine nel nostro laboratorio per l'esecuzione del PAR test. Dopo un periodo di incubazione di 18 ore si è proceduto alla lettura dei due metodi, confrontandone i risultati.

Il ceppo di *Bacillus subtilis* ATCC 6633, utilizzato per la realizzazione del test, è stato inoltre testato a tutti gli antibiotici

comunemente impiegati per la terapia delle infezioni delle vie urinarie per validarne la risposta in vitro.

Su un totale di 537 test eseguiti, 488 (90.8 %) sono risultati concordanti, mentre 49 (9.1 %) hanno evidenziato un diverso risultato rispetto al controllo, con una distribuzione relativamente omogenea tra i 26 campioni falsi negativi, pari al 4.8 % sul totale (con viraggio del colore nel pozzetto e contemporanea presenza, invece, di alone di inibizione in almeno una delle due piastre di agar-germi), e i 23 campioni falsi positivi, pari al 4.2 % sul totale (con assenza di viraggio del colore nel pozzetto e assenza di alone di inibizione in entrambe le due piastre di agar-germi).

E' evidente dunque che il test presenta una discreta percentuale di campioni che non concordano con la realtà clinica, come del resto accade con altri analoghi sistemi commerciali, con una percentuale di falsi negativi solo lievemente superiore a quella dei falsi positivi. A questo proposito è noto che, in termini di appropriatezza della risposta, un trattamento antimicrobico misconosciuto al microbiologo è in grado di indurre una notevole percentuale di risultati falsamente negativi delle urinocolture (Rigoli, 1980; Crotti, 1982), ma d'altro canto anche un PAR test falsamente negativo induce a scartare urine con basse cariche microbiche, fisiologicamente non rilevanti, sottostimando al tempo stesso un evento "critico" come l'inefficacia della terapia in atto. Non si dimentichi, infatti, che uno dei vantaggi dell'esecuzione del PAR test consiste proprio nella possibilità di intervenire sul risultato dell'urinocoltura in modo più ragionato: in questo senso, ad esempio, una positività del test in presenza di una ridotta carica microbica suggerisce di procedere con l'analisi della sensibilità del ceppo per verificare un'eventuale sopravvenuta refrattarietà al trattamento praticato. La percentuale di falsi positivi riscontrata, perciò, oltre a rappresentare di per sé un rilevante *pitfall* analitico (le cui cause meriteranno una valutazione più approfondita), indurrebbe il microbiologo a un'interpretazione inutilmente più restrittiva di urine altrimenti non significative dal punto di vista clinico, diminuendo in questo modo ancora una volta l'appropriatezza della risposta. Questi elementi di criticità vanno comunque rapportati con una notevole praticità del test e con un costo relativamente contenuto, che giustificano l'ipotesi di procedere a un'analisi più approfondita dei motivi che possono avere influito negativamente sulle dinamiche analitiche e a una valutazione del livello di sensibilità anche *versus* altri analoghi sistemi commerciali attualmente in uso in molti laboratori e alternativi al test in piastra.

M055

SETTICEMIA NEONATALE DA LISTERIA MONOCYTOGENES: CASO CLINICO

Allù M.T., Battaglia C.

Laboratorio Analisi Chimico Cliniche e Microbiologia. \ Ospedale M.P.Arezzo Ragusa.

Introduzione *Listeria monocytogenes* è un bacillo gram-positivo, asporigeno, anaerobio facoltativo. Studi sull'uomo hanno evidenziato la presenza di portatori asintomatici dal 5% al 44%. Gli individui a più alto rischio nel contrarre la listeriosi sono le donne in gravidanza, i loro feti, i neonati, i pazienti immunodepressi per malattia specifica o per terapia immunosoppressiva.

La *Listeria* è trasmissibile dalla madre al feto per via ematogena, per via ascendente attraverso membrane integre e per contagio durante il passaggio nel canale del parto, è responsabile di aborto, parto pretermine, febbre intrapartum, morte

fetale intrauterina e perinatale. La listeriosi neonatale si presenta in due forme: la precoce (*early onset*) legata a trasmissione transplacentare, caratterizzata da setticemia; la tardiva (*late onset*) associata a trasmissione intrapartum caratterizzata spesso da meningite.

Scopo del lavoro Descrivere un caso di setticemia da L.M. in una neonata pretermine.

Materiali e metodi Gravida alla 28esima settimana di gestazione accusa febbre e disturbi gastrointestinali. La donna partorisce alla 30esima settimana di gravidanza. La neonata alla nascita presenta edemi diffusi e idrope; vengono immediatamente eseguiti gli esami ematochimici (emocromo: globuli bianchi 19.000/mm³; piastrine 91.000/mm³; PCR 22mg/l) ed emocoltura utilizzando un flacone pediatrico PED/PLUS della BD. Viene instaurata prontamente terapia antibiotica con ampicillina-sulbactam (100 mg x 3/die per 14 giorni) e amikacina (15 mg x 2/die per 14 giorni). L'emocoltura si positivizza dopo 12 ore di incubazione. Dall'emocoltura viene eseguito un vetrino per la colorazione di gram, si osservano bacilli gram-positivi. Viene fatta comunicazione immediata al reparto. Si eseguono delle subcolture su agar sangue di pecora e agar cioccolato, le piastre vengono incubate in aerobiosi ed in atmosfera di CO₂ al 5-10% a 37°C. Dopo 24 ore di incubazione si sono sviluppate delle colonie piccole, translucide, grigie con un sottile alone di β-emolisi che non eccede la colonia. Il test della catalasi risulta positivo, l'esame microscopico evidenzia coccobacilli gram-positivi. Si procede all'identificazione biochimica utilizzando le gallerie API-LISTERIA e API-CORYNE (BIOMERIEUX).

Risultati L'identificazione biochimica ha dato come risultato L.M. Dopo il 6° giorno le condizioni cliniche della neonata migliorano, i controlli ematochimici, difatti, rilevano PCR=1mg/l e piastrine 173.000/mm³.

Conclusioni Come per le altre infezioni materne, l'identificazione dei casi a rischio, la diagnosi precoce e la terapia tempestiva rappresentano i punti fondamentali per ridurre i tassi di mortalità dovuti alla *Listeria*.

M056

PROBLEMATICHE DIAGNOSTICHE NELLE INFEZIONI SOSTENUTE DA LEGIONELLA PNEUMOPHILA

Pegoraro M., Maccacaro L., Fontana R.

Servizio di Microbiologia, Ospedale Civile Maggiore, Azienda Ospedaliera di Verona

Introduzione: grazie alla semplicità di esecuzione e alla rapidità con cui permette di ottenere un risultato, la ricerca dell'antigene urinario specifico è diventato l'approccio più largamente utilizzato nella diagnosi di infezione da *Legionella pneumophila*. L'obiettivo di questo studio vuole essere una valutazione critica dei risultati ottenuti in due anni di utilizzo combinato di diversi metodi di indagine nella diagnosi di legionellosi.

Materiali e metodi: nel nostro laboratorio la diagnostica delle infezioni da *L. pneumophila* si basa sulla ricerca dell'antigene urinario (Legionella Urin Antigen EIA, Biotest), sull'esame colturale e sulla ricerca sierologica (Legionella Mix1/Mix4/Mix2/Mix3, Euroimmun).

Risultati: nel 2001 sono stati sottoposti a ricerca di antigene di *L. pneumophila* 79 campioni di urina provenienti da 72 pazienti. La positività è stata riscontrata nel 7.6% (6 pazienti). 5 i materiali inviati per la ricerca colturale provenienti tutti da pazienti con positività dell'antigene urinario specifici.

co: 4 broncolavaggi sono risultati positivi per *L. pneumophila* sierotipo 1, un espettorato è risultato negativo. Di 3 pazienti (due positivi all'esame colturale ed uno negativo) per i quali è stato possibile disporre del siero acuto e del siero convalescente solo due hanno mostrato un aumento significativo del titolo anticorpale nel secondo prelievo. Dei restanti casi erano disponibili solo i campioni corrispondenti alla fase acuta di malattia (2 casi) risultati negativi o non era stato inviato alcun campione (1 caso). L'indagine sierologica ci ha inoltre permesso di stabilire una diagnosi presunta di legionellosi in 3 pazienti di cui non erano state fatte altre indagini.

Nel 2002 sono stati analizzati 214 campioni di urina, corrispondenti a 180 pazienti. La positività è stata riscontrata con certezza nel 6.1% (11 pazienti), mentre nell'1.1% (2 pazienti) è risultata dubbia. 7 pazienti (3 positivi e 3 negativi all'antigenuria e uno non valutato) sono stati sottoposti a esame colturale di materiali respiratori, ma solo in un caso si è avuto risultato positivo per *L. pneumophila* sierotipo 1 (il paziente era positivo all'antigenuria). Di 4 pazienti con positività dell'antigene urinario verificammo la sieroconversione; di altri 6 ricevammo solo il campione di sangue in fase acuta, di un paziente non abbiamo alcun dato sierologico. In un paziente con antigenuria dubbia il titolo anticorpale è rimasto basso (1:128) in due campioni di sangue inviati con un intervallo di 15 giorni e nell'altro è stata riscontrata la negatività nell'unico campione inviato. La sieroconversione è stata riscontrata in un paziente di cui non erano state fatte altre indagini.

Discussione: la riduzione del numero di campioni inviati per indagini colturali (dal 7% del 2001 al 4% del 2002) e per conferme sierologiche (dal 50% al 38%) indica la tendenza a basare la diagnosi di legionellosi essenzialmente sul risultato fornito dalla ricerca dell'antigenuria. Tale impostazione diagnostica è, secondo noi, limitante ed in alcuni casi fuorviante. In almeno 9 casi il risultato positivo o debolmente positivo non è stato confermato dalla ricerca sierologica. Riteniamo perciò che la ricerca dell'antigenuria, seppur estremamente valida come test rapido, non possa rappresentare l'unico approccio diagnostico in questo tipo di infezioni.

M057

UREAPLASMA UREALYTICUM : EPIDEMIOLOGIA E ANTIBIOTICO - RESISTENZA .

* Daghetta L., **Ricci S.

*Laboratorio analisi - Sant'Ambrogio - Vigevano(PV)

**Ambulatorio ginecologico Vigevano-(PV)

Ureaplasma urealyticum è un batterio appartenente alla famiglia delle Mycoplasmataceae, caratterizzato da dimensioni estremamente ridotte e dall'assenza di parete cellulare, che viene isolato con elevata frequenza dal tratto genito -urinario .

Dopo la pubertà la colonizzazione genitale avviene primariamente come risultato di un contatto sessuale, con l'aumento dell'esperienza sessuale e del numero dei partners la percentuale di donne portatrici sale rapidamente sino a raggiungere livelli variabili dal 20% al 75%, con punte massime d'incidenza nelle fasce sociali con comportamento sessuale a rischio (nomadi, extracomunitari, mondo della prostituzione). Una prevalenza così elevata in donne sane rappresenta l'elemento principale che contrasta l'ipotesi di un ruolo patogeno effettivo dei Mycoplasmi nella patologia genitale. Tuttavia essi

sono stati isolati, solo o in associazione ad altri patogeni, in diverse condizioni patologiche quali: l'ascesso della ghiandola del Bartolino, le vaginiti, la vaginosi batterica, la malattia infiammatoria pelvica, la febbre postabortiva e postpartum, l'infertilità, la sterilità, il basso peso alla nascita e la morte fetale in utero.

Scopo: obiettivo del nostro studio è stato quello di valutare la frequenza e l'antibiotico-resistenza di *Ureaplasma Urealyticum* in tamponi endocervicali e/o uretrali pervenuti in laboratorio, dietro richiesta dello specialista.

Sono stati presi in esame 405 pazienti, 39 maschi (10%) e 365 femmine (90%) con età media di anni 34 afferenti al Laboratorio nel periodo compreso fra maggio 2002 e aprile 2003. Nei campioni positivi è stata inoltre valutata l'associazione con altri microrganismi potenzialmente patogeni e infine è stato valutato l'andamento dell'antibiotico-resistenza di *Ureaplasma Urealyticum*.

Materiali e Metodi: la ricerca per *Ureaplasma Urealyticum* è stata eseguita utilizzando il kit "mycoplasma IST 2" della Ditta bio-Merieux che consente non solo l'identificazione ma anche di saggiare la sensibilità dei ceppi isolati verso 9 diversi antibiotici; inoltre si è valutata l'associazione dei campioni positivi con altri microrganismi potenziali patogeni.

Risultati: dei 405 campioni esaminati ne sono risultati positivi 115 (28%) di cui 10 tamponi uretrali e 105 tamponi endocervicali. Sui 115 campioni positivi per *Ureaplasma Urealyticum*, 33 (28%) mostravano un'associazione batterica e/o micotica così distribuita: Streptococco agalactiae (5), *Gardnerella vaginalis* (8), *Candida albicans* (20).

Per quanto riguarda la sensibilità agli antibiotici si è verificata una diminuzione delle sensibilità verso Ofloxacina (43%) ed Eritromicina (44%), mentre per Doxiciclina, Josamicina, Tetraciclina, Ciprofloxacina, Azitromicina, Claritromicina e Pristinamicina hanno mostrato una sensibilità superiore al 95%.

Conclusioni: dai dati in nostro possesso emerge una elevata incidenza di *Ureaplasma Urealyticum* nel tratto genito-urinario femminile rispetto a quello maschile. La percentuale di positività da noi riscontrata concorda con i dati della letteratura a favore di una popolazione non considerata a rischio. *Ureaplasma Urealyticum* è un patogeno che, nella nostra casistica, non ha mostrato grande variabilità sull'andamento delle resistenze verso gli antibiotici di elezione ma possiamo segnalare un aumento di resistenze intorno al 44% verso quegli antibiotici a largo spettro che vengono usati in prima battuta per infezioni comuni.

M058

UTILIZZAZIONE DELLE PIASTRE ORSA PER L'IDENTIFICAZIONE DI CEPPI MRSA DA EMOCOLTURE POSITIVE

Burdino E., Cirillo D., Bonfitto M.G., Frisicale L., Quaranta M.R., Riccabone A., Marchiaro G.

Laboratorio di Microbiologia Clinica AO San Giovanni Battista, c/o Bramante 88, Torino

S. aureus meticillino-resistente (MRSA) rappresenta il patogeno più frequentemente isolato in ambiente nosocomiale ed è in aumento come causa di infezioni comunitarie. Queste infezioni si accompagnano ad un'elevata morbidità e mortalità, particolarmente in pazienti con batteriemia. In questo contesto l'appropriata terapia per il paziente ed il rapido

riconoscimento dei portatori sono elementi critici per limitare la diffusione nosocomiale dei ceppi. I metodi convenzionali per l'identificazione di MRSA richiedono un periodo d'incubazione variabile dopo il primo isolamento e non consentono una risposta presuntiva in tempi rapidi, inoltre non sempre è possibile discriminare correttamente ceppi resistenti. È stata valutata la possibilità di utilizzare un terreno cromogenico antibiotato (ORSA) che sfrutta il blu di anilina per rilevare la fermentazione del mannitolo e consente l'identificazione presuntiva di ceppi MRSA derivati da emocolture. Questo terreno rileva in 24 ore la crescita di colonie di colore blu intenso. Sono stati seminati su piastre ORSA aliquote provenienti da 140 emocolture positive per la presenza di cocci gram-positivi in cluster. Dei 140 campioni saggiati 31 hanno dato origine a colonie blu presuntive di MRSA, 68 a colonie bianche (SCN-meticillino resistenti) e in 41 casi non si è avuta crescita (ceppi di SA e SCN non meticillino resistenti). Tutti i ceppi sono stati isolati su agar sangue e la meticillino resistenza è stata confermata (ricerca di PBP2A, amplificazione del gene *mecA* con due differenti coppie di primers specifici). L'identificazione biochimica ha confermato come MRSA 24/31 isolati che avevano originato colonie blu e come *S. haemolyticus* oxacillino-resistenti 7/31. In un caso l'utilizzo del terreno ORSA ha permesso la discriminazione di un ceppo di MRSA che non sarebbe stato riconosciuto dalle metodiche convenzionali. I nostri risultati indicano che il terreno ORSA può essere utilizzato per l'identificazione di MRSA da flaconi di emocolture

M059

PREVALENZA DI BETA-LATTAMASI DI TIPO CTX-M IN ISOLATI DI ESCHERICHIA COLI IN UN OSPEDALE DEL NORD ITALIA

^aMigliavacca R., ^cDell'Amico E., ^aNucleo E., ^bSpalla M., ^aAsticcioli S., ^cD'Andrea M., ^bMatti C., ^bDaturi R., ^cRossolini G.M., ^aPagani L.

^aDipartimento S.M.E.C. Sez. di Microbiologia, Università degli Studi di Pavia, via Brambilla 74, 27100 Pavia.

^bServizio Analisi Microbiologiche I.R.C.C.S. "S.Matteo", Viale Golgi 19, 27100 Pavia.

^cDipartimento di Biologia Molecolare, Sez. di Microbiologia, Università di Siena, Viale Bracci, 53100 Siena.

Scopo della ricerca. Determinare la prevalenza di enzimi di tipo CTX-M in isolati clinici di *Escherichia coli* produttori di beta-lattamasi a spettro esteso (ESBL), presso l'I.R.C.C.S. S.Matteo di Pavia.

Metodologia utilizzata. Sono stati raccolti, nel periodo Gennaio-Novembre 2002, 1240 ceppi di *E.coli*. 64 erano ESBL-positivi (5.2%) e 28 mostravano un fenotipo da CTX-M-produttori. Le MIC di cefotaxime (CTX), ceftazidime (CAZ), cefepime (FEP) ed aztreonam (ATM) sono state determinate mediante test di microdiluizione, come raccomandato dall'NCCLS (documento M7-A4). La produzione di ESBL è stata rivelata mediante il sistema di screening BD-Phoenix ed il test di sinergia del doppio disco utilizzando tazobactam e CTX, FEP, CAZ, ATM. Il trasferimento dei determinanti di resistenza è stato ottenuto mediante coniugazione. L'attività delle beta-lattamasi, separate mediante isoelettrofocusing (IEF) e rivelate utilizzando nitrocefina è stata testata, attraverso un saggio biologico, nei confronti di CTX, CAZ, FEP ed ATM. L'amplificazione degli alleli *bla*_{CTX-M} è stata effettuata con primer disegnati su regioni geniche altamente conservate. Il gene è stato caratterizzato mediante sequenziamento. I profili del DNA genomico, digerito con

NorI, sono stati analizzati mediante elettroforesi in campo pulsato (PFGE).

Risultati. 15 isolati erano caratterizzati da maggiore resistenza al cefotaxime che al ceftazidime. L'IEF degli estratti enzimatici grezzi degli stessi ha mostrato bande beta-lattamasiche multiple, fra cui una con pI 8.4 che, nel test biologico, era più attiva su CTX, FEP ed ATM che sul CAZ.

L'analisi PCR dei determinanti *bla*_{CTX-M} risultava positiva per 12 isolati. Il sequenziamento ha rivelato determinanti *bla*_{CTX-M-1} trasferibili mediante coniugazione. I profili dei CTX-M-produttori, ottenuti tramite PFGE, hanno evidenziato eterogeneità clonali.

Conclusioni. Le ESBL di tipo CTX-M stanno emergendo anche in Italia, contribuendo alla resistenza ai beta-lattamici in *E.coli*. La disseminazione plasmidica sembra essere il prevalente meccanismo di diffusione dei determinanti di resistenza fra i ceppi nosocomiali.

M060

RICERCA DI ESBL: SISTEMA VITEK 2 VS ETEST

Bonetti C., Fava L., Lucchi M.G., Mantovani L., Montanelli A.

Dipartimento di Patologia Clinica,
AO Ospedale Maggiore di Crema

Scopo: La diffusione nei batteri Gram negativi di β-lattamasi a spettro esteso (ESBL) in grado di idrolizzare le cefalosporine di terza generazione e i monobattami è oggi ormai percentualmente significativa. È pertanto fondamentale per il microbiologo clinico riconoscere precocemente un patogeno antibiotico-resistente, sia per le implicazioni clinico-terapeutiche, sia per pianificare il controllo epidemiologico di tali patogeni. Abbiamo così confrontato il metodo di rilevazione del meccanismo di resistenza mediato dalle ESBL dello strumento Vitek 2 della ditta BioMérieux con la metodica dell'Etest (assunto come gold standard).

Materiali e metodi: Il Vitek 2 rileva la produzione di ESBL utilizzando il cefpodoxime, cefalosporina orale di terza generazione, ed elaborando i valori di MIC ottenuti tramite l'AES, il sistema esperto avanzato.

Da settembre 2002 ad aprile 2003 abbiamo raccolto 74 ceppi batterici produttori di ESBL così distribuiti:

BATTERI	MATERIALI	REPARTI
40 P. MIRABILIS	62 URINOCOLTURE	42 CASE DI RIPOSO
16 E. COLI	10 TAMPONI DA PUS	10 ONCOLOGIA
7 P. STUARTI	2 ESPETTORATI	10 SSN
4 K. PNEUMONIAE		6 NEUROLOGIA
4 M. MORGANII		4 UT
12 S. MARCESCENS		2 CHIRURGIA
1 E. CLOACAE		

I 74 ceppi sono stati testati con l'Etest ESBL. Sono strisce impregnate di sostanza antibiotica, nelle quali vi sono, a ciascuno dei due estremi, gradienti di concentrazione di un β-lattamico e dello stesso β-lattamico con l'aggiunta di una concentrazione fissa di acido clavulanico. Sono disponibili strisce con ceftazidime (TZ) e cefotaxime (CT), entrambe utilizzate nel nostro studio. Il ceppo è ESBL positivo se il rapporto tra la MIC di TZ o di CT e la MIC di TZL o di CTL è ≥ 8 o se vi sono deformazioni dell'ellisse.

Risultati: Con la metodica dell'Etest 3 dei 74 ceppi sono risultati non produttori di ESBL e 5/74 non determinabili, in quanto i valori di MIC erano al di fuori dei ranges del test.

Conclusioni: La diagnosi di un'infezione sostenuta da un ceppo ESBL positivo pone numerosi problemi, in quanto

richiede l'uso di tecniche costose ed indaginose, che non sempre trovano posto nella routine del laboratorio di microbiologia. Il nostro studio ha dimostrato che lo strumento Vitek 2 può essere un valido ausilio in quanto si è dimostrato di semplice applicazione, affidabile e poco costoso.

M061

UTILIZZO DELLA STRAND DISPLACEMENT AMPLIFICATION NELLA DIAGNOSI DELLE MICOBATTERIOSI

Dodaro S., Filia M.A. e Cavalcanti P.

Servizio di Microbiologia e Virologia, P.O. Annunziata, via Zara, 87100 Cosenza

Nell'ultimo decennio, la necessità di porre diagnosi di micobatteriosi in tempi brevi si è sentita particolarmente e ciò in relazione al rilievo di tale tipo di infezione nei soggetti immunocompromessi, nei quali è possibile riscontrare come agente etiologico sia il *Mycobacterium tuberculosis complex* (MTC) sia il gruppo dei micobatteri non tubercolari (NTM). La diagnosi differenziale fra questi due gruppi di agenti microbici, fondamentale ai fini di un corretto approccio terapeutico, ha determinato la necessità di mettere a punto metodiche rapide ed affidabili in grado di rispondere a tale quesito in tempi assai brevi. L'amplificazione degli acidi nucleici (NAA) ha risposto bene a questa esigenza e tra le varie tecniche che sfruttano tale principio, nel nostro laboratorio abbiamo utilizzato la Strand Displacement Amplification (SDA) che è una tecnica in vitro di amplificazione isoterica del DNA del MTC da campione biologico. Tale tecnologia è completamente automatizzata con un sistema chiamato BDProbeTecET. Lo scopo di questo lavoro è quello di valutare il valore predittivo della SDA.

A tal fine, negli anni 2001 e 2002, 1614 campioni biologici sono stati sottoposti ad indagini microscopico-culturali e SDA. Sono stati isolati 19 ceppi di MTC e 33 ceppi di NTM.

Premesso che il metodo di riferimento è l'esame colturale abbiamo ottenuto i seguenti risultati:

se la microscopia è positiva, la SDA ha un valore predittivo sia in senso positivo che in senso negativo del 100%;

se la microscopia è negativa, il valore predittivo della SDA si modifica nettamente per la presenza di falsi positivi e, soprattutto, di falsi negativi.

Da ciò le considerazioni seguenti:

le tecniche di NAA, quale la SDA da noi utilizzata, sono certamente valide in caso di esame microscopico positivo; in caso di negatività dell'esame microscopico rimane fondamentale il dialogo con il clinico.

M062

SIERODIAGNOSI DI TBC: UTILITA' CLINICA DI DUE TEST ELISA: PATHOZYME-MYCO e TB-TEST

G. Ciarrocchi¹, A.M. Neri¹, G. Rondello, M. Tocchini¹, E. Cimarelli², P.G. Zitti³, R. Del Gobbo⁴, F. Burzacchini⁴, M. Dini⁴

¹,³,⁴A.O. "Umberto I°" Ancona; ²A.S.L. Jesi (AN) I.U.O. Laboratorio Analisi; ²U.O. Broncopneumologia; ³U.O. Pneumologia; ⁴U.O. Malattie Infettive.

Scopo. Verificare la Sensibilità, la Specificità e la utilità clinica di due test sierologici elisa, basati sull'impiego di differenti antigeni micobatterici, nella ricerca di anticorpi anti-

Mycobacterium IgG, IgA, IgM, in casi di tubercolosi polmonare ed extra-polmonare.

Metodi. Un totale di 123 sieri, appartenenti ai seguenti gruppi di soggetti: a) 23 pazienti con tbc polmonare (20) ed extra-polmonare (3); b) 10 pazienti con patologie polmonari non tbc; c) 10 pazienti con quadro clinico sconosciuto; d) 80 donatori sani, furono esaminati per la ricerca di anticorpi anti-*Mycobacterium* mediante l'impiego di due test elisa, aventi per coating due diversi estratti di antigeni micobatterici: 1) PATHOZYME-MYCO OMEGA Ltd-RADIM Italia: miscela di Lam e 38 kD ricombinante; 2) TB-TEST-EUROSPITAL Italia: estratto di A-60 da *M.bovis*.

Il gruppo di 23 pazienti tbc era suddiviso in: 5 casi di tbc-I°, 12 casi di tbc post-I° <2 anni, 6 casi di tbc post-I° >2 anni. L'infezione tubercolare fu considerata clinicamente attiva in 21/23 pazienti. Il test PATHOZYME-MYCO fu eseguito in automazione su analizzatore ALISEI-RADIM; il TB-TEST fu eseguito manualmente secondo le procedure indicate.

Il "gold standard" era rappresentato dalla diagnosi clinico-radiologica e/o dall'isolamento di *M.tuberculosis* con metodi di microbiologici convenzionali e di amplificazione genica.

Risultati. Adottando il criterio di positività sulla base dei soli risultati positivi, l'insieme del gruppo dei 23 pazienti tbc mostrò con il PATHOZYME IgG, IgA, IgM una Sensibilità rispettivamente di 73.9%, 43.4%, 34.7%; la media per i tre isotipi fu del 50.7%. Il TB-TEST mostrò in parallelo valori di Sensibilità di 62.5%, 52.1%, 34.7% ed una media di 49.8%.

Nel sottogruppo di 5 pazienti tbc-I°, 4/5 sieri risultarono IgM positivi ad entrambi i test, IgG positivi in 0/5, IgA positivi in 1/5. Nei due restanti sottogruppi entrambi i test evidenziavano elevati valori per IgG (11/12 e 10/12, rispettivamente) ed in minor misura per IgA. La specificità ottenuta con PATHOZYME in 90 sieri (80 donatori + 10 pazienti non tbc) per IgG, IgA, IgM, fu rispettivamente di 95%, 100%, 92.5%; TB-TEST ottenne 80%, 67.5%, 77.5%.

Conclusione. I valori di Sensibilità per i due test appare soddisfacente qualora i risultati vengano valutati tenendo conto del diverso significato delle classi anticorpali nei differenti stati infettivi dei pazienti tbc.

La Specificità del PATHOZYME-MYCO risulta più elevata per tutti i tre isotipi in entrambi i gruppi non tbc.

Lo studio ha altresì rivelato la capacità dei test sierologici (IgG+IgA+IgM) di svelare una reazione umorale specifica, talora anche in assenza di isolamento batterico (due casi); viceversa, due altri casi non hanno mostrato positività sierologica, a fronte di produzione bacillifera, denotando una variabilità individuale nell'equilibrio immunologico umorale e celluloso-mediato.

Le soddisfacenti performances dei due test, in particolare del PATHOZYME-MYCO, unite alla facile adattabilità ad una esecuzione in automazione, sembrano arricchire di un utile presidio diagnostico la corretta valutazione clinica e lo stato infettivo delle micobatteriosi.

M063

TUTTO CI SI ASPETTAVA MA NON UN ELEPHANTIS

Cainarca M, Tarricone C, Attomanelli S, Guenzi I, Ferrarese M, Guagnellini E.

Laboratorio Analisi Chimico Cliniche e Microbiologia. Azienda Ospedaliera San Paolo. Milano

Una battuta scherzosa per introdurre un argomento che sicuramente non è tale: i Micobatteri. Con questo lavoro voglia-

mo descrivere la nostra esperienza negli anni 2001-02 confermando, come già molti Autori, il ritrovamento sempre più frequente di Micobatteri non tubercolari (MNT) sia come quantità che come qualità. I campioni processati sono arrivati al nostro Laboratorio sia da pazienti interni all'ospedale sia da pazienti ambulatoriali. Tutti i campioni sono stati fluidificati e decontaminati con N-acetil-cisteina NaOH per 15' e neutralizzati con tampone fosfato pH 6.8. Dopo centrifugazione il sedimento viene risospeso con tampone fosfato per l'esecuzione dell'esame microscopico e colturale. I preparati microscopici, per la ricerca di bacilli alcool-acido resistenti sono stati colorati con la colorazione di Ziehl-Neelsen (carbolfuchina a caldo); per l'esame colturale in terreno solido è stato inoculato un tubo di Lowenstein-Jensen, mentre per l'esame in brodo un flacone Bactec 12B come da istruzioni della ditta produttrice. I risultati ottenuti sono stati i seguenti:

	Anno 2001	Anno2002
Camp pervenuti	582	721
Camp non idonei	22	52
Camp processati	560	669
Camp inquinati	5%	4.5%
Espettorati	52%	55%
Urine	37%	27%
Altro	11%	18%
Camp positivi	4.4%	8.9%
TBC	2.2%	5.4%
MNT	2.2%	3.5%

Tra i Micobatteri non tubercolari del 2002 abbiamo isolato un ceppo di *M. Elephantis* da escreato. La tipizzazione del ceppo è stata eseguita dal Dott. Tortoli con HPLA. Dai dati presenti in letteratura *M. Elephantis* è un micobattere atipico, a crescita rapida, non cromogenico, isolato da un ascesso polmonare di un elefante adulto morto per malattia cronica respiratoria. Nell'uomo *M. Elephantis* è da considerarsi un contaminante nell'escreato, al contrario è da valutarsi la sua patogenicità se riscontrato in altri materiali biologici.

M064

BATTERIEMIA PERSISTENTE DA *M. CHELONAE* IN UN PAZIENTE SOTTOPOSTO A TRAPIANTO DI POLMONE

Malighetti V., Grancini A., Ranzi M.L., Maraschini A., Perego L., Penati V.*, Caspani M.L.*

Lab. Centrale di Analisi Chimico Cliniche e Microbiologia

* Terapia Intensiva Generale - IRCCS Ospedale Maggiore - Milano;

* Lab. Microbiologia - Istituto Villa Marelli - Ospedale Niguarda - Milano;

Mycobacterium chelonae è un micobattere a rapida crescita che deve essere considerato un importante patogeno umano potendo causare infezioni sia cutanee che sistemiche.

Un uomo di 56 anni, sottoposto a trapianto di polmone sin. per grave enfisema bollosa bilaterale, in terapia immunosoppressiva con Ciclosporina (1,5 mg x 2), Azatioprina (50 mg x 2), Deltacortene (25 mg), viene ricoverato per l'assistenza post-operatoria presso il reparto di Terapia Intensiva dove manifesta grave insufficienza respiratoria, cardiocircolatoria e renale.

A 3 mesi dal trapianto, compaiono segni di probabile infezione in sede di cicatrice toracotomica in assenza di crescita di comuni agenti batterici. Il paziente manifesta rialzo termico (fino a 38° C) della durata di 24 ore. Vengono isolati da

emoculture bastoncini Gram variabili alcool-acido resistenti alla colorazione di Ziehl-Neelsen.

La febbre ricompare dopo 10 gg. e si isolano i medesimi microrganismi da altre 12 emocolture inviate nei successivi 30 giorni. Il Centro di riferimento per i Micobatteri Istituto Villa Marelli identifica il microrganismo come *M. chelonae* ad alto grado di resistenza; lo stesso microrganismo viene isolato da biopsia della cicatrice toracotomica.

Il paziente viene trattato con Amikacina (500 mg/48h circa secondo dosaggio ematico di valle) e Imipenem (500 mg x 2). Essendo migliorate le condizioni cliniche il paziente viene trasferito in Chirurgia e quindi in un centro riabilitativo con prescrizione di sole irrigazioni della ferita con fisiologica.

Quando colture aerobie e anaerobie convenzionali di essudati da ferite suppurate, soprattutto in pazienti immunodepressi, risultano negative, i micobatteri devono essere considerati come possibili agenti eziologici.

M065

PCR REAL TIME PER L'IDENTIFICAZIONE DI *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* MDR

Meacci F.; Orrù G.; Vicidomini S.; Trappetti C.; Oggioni M.R.; Pozzi G.

Laboratorio di Microbiologia Molecolare e Biotecnologia, Dipartimento di Biologia Molecolare, Università di Siena, viale Bracci, 53100 Siena.

La comparsa di ceppi di *Mycobacterium tuberculosis* multi-drug-resistant (MDR-TB) pone l'accento sulla necessità di determinare la sensibilità ai farmaci degli isolati clinici, allo scopo di impostare un trattamento terapeutico efficace del paziente. I metodi tradizionali impiegati per saggiare la sensibilità ai farmaci dei micobatteri sono basati su tecniche colturali che, data la bassa velocità di crescita del microrganismo, hanno tempi di refertazione estremamente lunghi.

Obiettivi: Mettere a punto un saggio molecolare in grado di rilevare rapidamente le mutazioni più frequentemente associate alla resistenza verso i farmaci Isoniazide e Rifampicina in *Mycobacterium tuberculosis*.

Metodi: Sono state disegnate delle sonde Hybridization Probes (HP) per discriminare tramite PCR real time i codoni wild type da quelli mutati. Sono stati ottimizzati due diversi saggi di PCR, uno per il riconoscimento della resistenza all'Isoniazide uno per la resistenza alla Rifampicina. I geni target nei due saggi sono rispettivamente *katG* ed *rpoB*. Le sonde sono state disegnate sui codoni che sono risultati mutati nel corso di uno studio di epidemiologia molecolare, effettuato su isolati clinici italiani MDR-TB. Le sonde sono state validate su una collezione di 53 ceppi italiani MDR-TB.

Risultati: L'associazione di entrambe le reazioni di PCR ci ha consentito di identificare gli alleli resistenti nel 94,2% degli MDR-TB (49/53).

Conclusioni: La PCR real time basata sull'uso delle sonde HP è un metodo rapido e affidabile per effettuare un antibiogramma molecolare in ceppi MDR di *Mycobacterium tuberculosis*. La determinazione della sensibilità può essere effettuata sia su un campione positivo all'osservazione microscopica, sia su una coltura primaria positiva. Questo saggio molecolare permette di ottenere un'informazione preliminare ed essenziale circa la suscettibilità ai farmaci dell'isolato entro poche ore dal prelievo del campione, contro le 4-6 settimane necessarie per la determinazione colturale della farmaco resistenza.

M066

EPISODIO DI CONTAMINAZIONE DI CAMPIONI NEL SISTEMA DI LETTURA BACTEC 460 E VERIFICA CON METODICA PFGE.

Buratta M.; Moro A.; Iurlo A.; Cassetti T.; Pasquale L.; Sposini T.; Mazzolla R.; Bistoni F.

Dipartimento di Medicina Sperimentale e Sc. Biochimiche,
Sez. Microbiologia, Università degli Studi di Perugia,
Via del Giochetto, 06122 Perugia

Obiettivo: abbiamo verificato, tramite elettroforesi pulsata, che l'isolamento di *M. tuberculosis* complex, da 5 campioni di pazienti diversi, era dovuto a contaminazione verificatasi nel Bactec 460 (BD).

Materiali e Metodi: i campioni, provenienti da pazienti ricoverati in varie Cliniche dell'Azienda Ospedaliera di Perugia, sono pervenuti nel nostro Laboratorio di Micobatteriologia ed hanno subito il normale iter diagnostico di sbatterizzazione e semina. Sono stati seminati in terreno solido Lowenstein Jensen e in terreno liquido 7H12 Middlebrook (12 B) del sistema radiometrico Bactec 460 (BD). Dalle colture sviluppatesi è stata eseguita la tipizzazione con il test AccuProbe (GenProbe). Tali colonie sono state inserite in piccoli gel di agarosio, sottoposti a trattamenti litici con distruzione della parete cellulare e liberazione di DNA cromosomico. Il DNA è stato digerito con l'enzima di restrizione XbaI e sottoposto ad elettroforesi in campo pulsato (PFGE).

Risultati: la colorazione Ziehl Neelsen allestita sui campioni era positiva solo per il paziente n° 1 e negativa per gli altri 4. Dai 5 campioni seminati in 12B sono stati isolati 5 *M. tuberculosis* complex. L'osservazione delle semine dirette dei campioni in terreno solido Lowenstein Jensen ha mostrato crescita solo nel campione n° 1. Notizie cliniche riferivano malattia tubercolare solo nel paziente n°1.

Il risultato dell'elettroforesi in campo pulsato ha mostrato profili genomici identici in tutti e 5 i campioni.

Conclusioni: la contaminazione del terreno liquido dei 4 campioni negativi si è verificata a causa di un cattivo funzionamento del sistema di sterilizzazione degli aghi per la lettura dei flaconi 12B del Bactec 460. L'elettroforesi pulsata ha messo in evidenza che i profili genomici dei 5 micobatteri erano identici e quindi derivanti da un unico microorganismo. Le notizie cliniche hanno confermato l'avvenuta contaminazione dimostrando l'importanza della valutazione critica da parte dell'operatore dei dati di laboratorio correlati ai dati clinici.

M067

VERIFICA DI VITALITA' DEI BACILLI TUBERCOLARI IN PREPARATI MICROSCOPICI PER LA COLORAZIONE DI ZIEHL NEELSEN.

Moro A.; Buratta M.; Iurlo A.; Cassetti T.; Pasquale L.; Sposini T.; Mazzolla R.; Bistoni F.

Dipartimento di Medicina Sperimentale e Sc. Biochimiche,
Sez. Microbiologia, Università degli Studi di Perugia,
Via del Giochetto, 06122 Perugia

Obiettivo: la preparazione di vetrini da campioni per la colorazione Ziehl Neelsen, rappresenta una potenziale fonte di infezione poiché i bacilli sopravvivono se non opportunamente

trattati prima della colorazione. Abbiamo valutato la vitalità dei bacilli dopo vari trattamenti di inattivazione.

Materiali e Metodi: a 10 ml di espettorato autoclavato è stato aggiunta una sospensione di *M. tuberculosis* H37Ra, ATCC 25177, per raggiungere le concentrazioni di 0,5 McF, 1 McF e 2 McF. I vetrini, sterilizzati, sono stati preparati con le sospensioni batteriche e lasciati asciugare sotto cappa. I trattamenti di inattivazione utilizzati sono stati: calore (80°C); esposizione ai raggi ultravioletti e fenolo al 5%. I tempi di esposizione per il calore, gli UV ed il fenolo al 5% sono stati: 30 min., 1 h, 2h e 24h. I vetrini sono stati incubati a 37°C per 10 giorni in tubi Falcon contenenti 20 ml di 7H9 Middlebrook. Terminata l'incubazione, dai brodi centrifugati, i sedimenti sono stati seminati in MGIT 9600 ed incubati 8 settimane.

Risultati: Dopo 2 h in stufa a 80°C tutte e tre le sospensioni di micobatteri risultavano non vitali. Gli UV sono in grado di inattivarle solo dopo 24 h di esposizione. Al contrario, il fenolo al 5%, dopo un contatto con la sospensione batterica per 30 minuti è in grado di uccidere tutti i bacilli presenti.

Conclusioni: l'esposizione al calore ad 80°C per 2h ed il contatto per 30 minuti con il fenolo al 5% rappresentano il tempo minimo necessario per inattivare i bacilli tubercolari, alternativamente una buona efficacia è dimostrata dal trattamento con i raggi UV dopo 24h di esposizione. La tempestività della risposta microscopica consente al clinico una più rapida diagnosi e terapia antibiotica adeguata. Questo studio ci consente di associare la rapidità dell'esame diretto con una buona sicurezza di laboratorio.

M068

RICERCA DIRETTA DI M. TUBERCULOSIS IN CAMPIONI RESPIRATORI CON IL SISTEMA AUTOMATICO BDPROBETEC ET.

Di Taranto A., De Nittis R.,* Mosca A., *Barra Parisi G., Antonetti R.,* Miragliotta G.

Laboratorio di Microbiologia, Ospedali Riuniti di Foggia,
*Cattedra di Microbiologia, Dip. MIDIM, Università di Bari

BDProbeTec ET (Becton Dickinson) è un sistema automatico che permette la ricerca rapida di *M. tuberculosis* direttamente nel campione clinico. Questo sistema utilizza come amplificazione isoterma del DNA la tecnologia SDA (Strand Displacement Amplification) e, come metodo di rilevamento, il trasferimento di energia fluorescente, consentendo l'amplificazione e la rivelazione del DNA in real-time.

Presso il laboratorio di Microbiologia degli Ospedali Riuniti di Foggia, per la ricerca diretta di *M. tuberculosis*, al tradizionale esame batterioscopico e culturale (Bactec 960 TB, Becton Dickinson) è stato affiancato il sistema SDA. Nell'anno 2002 sono stati esaminati 712 campioni respiratori tutti provenienti da pazienti ospedalizzati ed ambulatoriali sui quali di routine viene eseguita la ricerca di *M. tuberculosis*. In particolare, sono stati processati 76 espettorati, 596 BAL e broncoaspirati, 40 liquidi pleurici.

16/21 (76.2%) campioni positivi all'esame culturale sono risultati positivi col test SDA. In particolare, all'esame batterioscopico 12/21 sono risultati positivi e 4/21 negativi. 5/21 (23.8%) campioni positivi all'esame culturale sono risultati negativi al batterioscopico e al test SDA. Infine, 5 campioni negativi all'esame batterioscopico e culturale sono risultati positivi al test SDA (4 da pazienti in terapia antitubercolare). I nostri risultati suggeriscono che la real-time PCR, metodica di semplice esecuzione, è attendibile per la rilevazione diretta di *M. tuberculosis* da campione clinico e può essere

considerata una valida e più rapida alternativa ai metodi tradizionali.

M069

BD PROBETEC ET MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS COMPLEX (DTB): CONSIDERAZIONI DOPO 15 MESI D'USO

Caola I., Sartori R., Amari A., Fedrizzi M., Filippi S., Pederzoli L., Rigoni A., Caciagli P.

Laboratorio di Microbiologia, Ospedale di Trento

Scopo: Effettuare una valutazione comparativa tra i metodi diagnostici tradizionali e il metodo rapido di amplificazione genomica DTB, in riferimento alla conferma clinica di TBC.

Materiali e metodi: 680 campioni selezionati da 3960 pervenuti al laboratorio in 15 mesi, sono stati sottoposti a ricerca di *M.t.* in biologia molecolare in base alla specifica richiesta del clinico, alla motivazione del sospetto clinico, alla presenza nello striscio di batteri alcool-acido resistenti.

I 680 campioni sono stati sottoposti a microscopia dopo colorazione di ZN, coltura in terreno solido LJ ed in MGIT dopo fluidificazione e decontaminazione con NALC-NaOH e amplificazione genomica con sistema BD ProbetTec ET (DTB). Esso utilizza una tecnica di Strand Displacement Amplification per l'identificazione qualitativa diretta da campioni clinici del DNA del complesso *Mycobacterium tuberculosis* (*M.t.*). Il test DTB è stato eseguito ed interpretato secondo le istruzioni del produttore.

466 campioni provenivano dalle vie respiratorie (243 escresce, 37 BAL, 186 broncoaspirati), 214 erano campioni extrapulmonari (65 urine, 88 liquidi da siti sterili, 61 pus e biopsie).

Risultati: Dei 466 campioni respiratori 22 erano positivi al test DTB. Di questi 14 presentavano striscio e coltura positivi, 7 striscio negativo e coltura positiva, 1 striscio e coltura negativi. 3 campioni sono risultati DTB negativi con striscio negativo e coltura positiva. La diagnosi di TBC è stata confermata clinicamente per un totale di 25 casi.

Sono stati isolati anche 7 *MOTT* (2 *MAC*, 2 *M.gordonae*, 2 *M.chelonae*, 1 *M.fortuitum*) per i quali il test è risultato sempre negativo. La sensibilità del test su campioni respiratori è stata del 88%, la specificità del 100%.

Sui 214 campioni extrapulmonari 21 erano positivi al test DTB. Di questi 9 presentavano striscio e coltura positivi, 7 striscio negativo e coltura positiva, 2 striscio e coltura negativi. 3 pazienti in terapia antitubercolare, iniziata prima degli accertamenti di laboratorio, avevano striscio positivo, coltura negativa e DTB positivo. Le infezioni tubercolari extrapulmonari confermate clinicamente erano in totale 23, di cui 2 con DTB negativo (1 con striscio e coltura positiva, 1 positivo solo alla coltura). I due campioni risultati DTB negativi con coltura positiva per *M.t.* erano entrambi liquidi pleurici che non hanno rivelato presenza di inibitori della reazione di amplificazione. Nei quattro casi di isolamento di *MOTT* (1 *BCG*, 2 *MAC*, 1 *M.marinum*) il test DTB è sempre risultato negativo. La sensibilità del test su campioni non respiratori è stata del 92%, la specificità del 100%.

Conclusioni: Il sistema diagnostico DTB, utilizzato per rendere più rapida la diagnosi di TBC, ha mostrato buone performance in termini di sensibilità e specificità, assieme alla semplicità e sicurezza di esecuzione. L'introduzione di tale metodologia ha permesso al laboratorio di fornire un effettivo contributo al clinico per l'inquadramento diagnostico di una patologia antica che si presenta oggi talvolta con caratteristiche atipiche.

M070

BRONCOPNEUMOPATIE CRONICO OSTRUTTIVE IN PAZIENTI ANZIANI: EPIDEMIOLOGIA E CHEMIOANTIBIOTICO SENSIBILITA'.

Frugoni S.¹, Spuria N.¹, Barigozzi P.¹, Bollini B.¹, Dalla Valentina P.¹, Carotenuto E.², Bezzi ML.², Faccione G.², Garbagnati C.², Berardinelli P.², Berlusconi A.¹

¹Laboratorio Analisi Chimico Cliniche e Microbiologiche;

²U.O.S. Fisiopatologia e Riabilitazione Respiratoria; Ist. Geriatrico "Pio Albergo Trivulzio", Via Trivulzio 15, 20146 Milano.

La più frequente patologia respiratoria nei soggetti anziani è la broncopneumopatia cronico ostruttiva (BPCO), di cui le (sovrainfezioni batteriche sono la più nota causa di esacerbazione a evoluzione peggiorativa.

Scopo del lavoro è valutare, nell'espettorato di anziani con BPCO, eventuale peculiarità di frequenza di isolamento di microrganismi patogeni e relativo spettro di sensibilità chemioantibiotica.

Nel periodo 01.05.2002 - 31.04.2003 sono stati esaminati 227 espettorati di pazienti ambo sesso, con età media 79 ± 6.51 anni. L'idoneità dei campioni era stabilita dai criteri di Watteau. Sono stati esclusi dall'analisi statistica i microrganismi duplicati o isolati 15 giorni dopo terapia antibiotica, considerati una nuova infezione.

Gli isolamenti sono stati eseguiti in terreni commerciali (bioMérieux), il conteggio delle UFC con tecnica di diluizione in soluzione fisiologica e semina in Agar Cioccolato; l'identificazione con strumentazione automatica Vitek (bioMérieux), antisieri specifici e/o prove biochimiche appropriate e specifiche.

La chemioantibiotico sensibilità è stata determinata con sistema Vitek o con metodo in agar diffusione utilizzando terreni culturali, temperature e atmosfere idonee. La capacità di produrre β-lattamasi è stata determinata con dischetti di Nitrocefina (Cefinase - Becton Dickinson).

La chemiosensibilità dei microrganismi era rivolta ad antibiotici usuali nelle patologie respiratorie. Sono risultati positivi 95 campioni pari al 41,8%. In tutti i campioni positivi è stata isolata flora batterica monomicrobica in carica superiore a 10⁴UFC/mL.

I microrganismi più frequentemente isolati sono risultati essere: *P.aeruginosa* (45%), *B.catarrhalis* β-lattamasi produttore (13%), *H.influenzae* (12%), *E.aerogenes* (6%), *S.pneumoniae* (4%), *P.mirabilis* (5%), *S.aureus* (2%); altri (13%).

P.aeruginosa ha mostrato una sensibilità elevata, nell'ordine, ad Amicacina, Tobramicina, Imipenem; *H.influenzae* a Cefuroxime; *S.pneumoniae* alle ampicilline; *S.aureus* a Vancomicina e Teicoplanina.

I dati sono congruenti con la letteratura ma la frequenza di *P.aeruginosa* e la sensibilità a farmaci nefrotossici giustifica la sempre maggior gravità clinica delle riacutizzazioni bronchitiche di BPCO in anziani di età avanzata; conforta le scelte aziendali per una cura globale di tali soggetti in ambienti ad elevata aggregazione funzionale specialistica.

M071

IMPORTANZA DELLA PREPARAZIONE DEL CAMPIONE PER ALLONTANARE SOSTANZE INIBENTI L'AMPLIFICAZIONE UTILIZZANDO IL "MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS DIRECT TEST"

Riva R., Carcheri M., Ciacci P., Graziani A., Lacitignola G., Mentasti M., Pastorino I., Ventura A., Zanin C., Capuzzo R..

Laboratorio Chimico Clinico e Microbiologico -
Az. Ospedaliera "Villa Scassi" - Genova

Obiettivi

Per evitare falsi negativi nei test di amplificazione se presenti inibitori occorrerebbe un controllo interno di amplificazione. Pensiamo che in assenza di questo un trattamento del campione accurato possa eliminare preventivamente gli inibitori.

Metodi

Nel nostro laboratorio usiamo dal 1994 il: "Mycobacterium tuberculosis Direct Test" (MTD test, Gen-Probe), riformulato nel 1997 per aumentarne la sensibilità, con volume campione passato da 100 a 450 µl., conseguentemente maggiore sensibilità ad eventuali inibitori.

Riscontrato questo fatto nei primi mesi d'uso dell'MTD test II allorché Aspirati Bronchiali e Versamenti Pleurici, abitualmente addizionati di un prodotto commerciale anticoagulante e lisante, hanno fornito amplificazione negativa contro esami microscopico e colturali positivi.

Controllata ogni fase di preparazione campione ed esecuzione test, verificata corrispondenza tra amplificazione negativa e presenza del prodotto, ne abbiamo controllato i singoli costituenti.

Abbiamo verificato che la presenza di 153 mg/ml di Sodiopolanetosulfonato inibisce l'amplificazione. Solo ripetuti ed abbondanti lavaggi del pellet hanno permesso di superare il problema.

Sostituito il prodotto con un altro, verificato con il prodotto, abbiamo utilizzato l'esperienza per migliorare il protocollo di preparazione dei campioni onde eliminare preventivamente eventuali inibitori.

Risultati

Partendo dal pretrattamento raccomandato (CDC); per campioni fluidi (urina, liquido seminale, pus, liquor, versamento pleurico e peritoneale) procediamo a 2 lavaggi supplementari con 40 µl di H₂O distillata prima della decontaminazione con N-A-L-C e NaOH 2% per 15 minuti, per materiali da fluidificare o omogeneizzare i 2 lavaggi sono effettuati sul pellet, dopo neutralizzazione con tampone fosfato, con 40 µl dello stesso.

Esaminando i risultati di nove anni di attività su oltre 2700 campioni sottoposti a MTD test si ha una elevatissima correlazione tra questo e gli esami colturali.

Conclusioni

Le precauzioni adottate nel trattamento dei campioni dei materiali da sottoporre ad amplificazione sembrerebbero garantire la possibilità di applicare tale test anche a materiali con eventuali inibitori.

M072

VALUTAZIONE DI UNA REAL-TIME PCR PER LA QUANTIZZAZIONE VIREMICA DELL'HCV RNA

Caldarelli-Stefano R., Panzeri M.P.*, Cambiè G.*, Molina V.

Laboratorio Analisi, sez. Diagnostica Molecolare, CAM, Monza (Mi)
- Laboratorio Biologia Molecolare, Centro Trasfusionale, Ospedale di Lodi.

La determinazione del livello sierico dell'RNA del virus dell'epatite C (HCV) risulta di estrema importanza nella valutazione dell'effetto della terapia nei pazienti in trattamento.

Dai dati presenti in letteratura, la real-time PCR si dimostra una tecnica sensibile e accurata per la quantizzazione degli acidi nucleici, ma è ancora poco utilizzata nei laboratori analisi per determinare l'RNA dell'HCV per diversi motivi, tra i quali la necessità di personale specializzato. Inoltre, i kit commerciali non sono ancora ampiamente diffusi ed in alternativa vengono utilizzati essenzialmente il sistema branched-DNA (Bayer) o Amplicor monitor (Roche Diagnostics).

Il nostro laboratorio ha messo a punto una metodica in real-time per determinare la carica viremica dell'HCV RNA nel plasma o nel siero, in cui viene utilizzato il colorante SYBR Green come fluoroforo. Sono stati disegnati due primers nella regione conservata 5' non codificante, in modo da poter rilevare tutti i diversi genotipi. Sono stati analizzati campioni di plasma provenienti dalla seroteca del Centro Trasfusionale dell'Ospedale di Lodi, in cui era stata determinata la carica viremica utilizzando la metodica branched-DNA.

Come standard di riferimento è stato utilizzato uno standard internazionale di 10⁶ UI/ml diluito più volte per costruire una curva, con una concentrazione finale di 102 UI/ml. Le reazioni sono state verificate per mezzo delle curve di melting. Il confronto tra le due metodiche, branched-DNA e real-time PCR ha dimostrato risultati non completamente paragonabili fra loro, suggerendo che il valore di HCV RNA di un campione può differire a seconda del procedimento impiegato, indicando che il laboratorio deve sempre dare un'indicazione relativa al metodo di determinazione utilizzato, in modo che il clinico possa valutare il risultato nel corso del monitoraggio dei pazienti.

M073

CERTIFICAZIONE "EVOLUTA" DEL LABORATORIO DI MICROBIOLOGIA E VIROLOGIA: UN IMPORTANTE OBIETTIVO RAGGIUNTO E DA CONSOLIDARE

¹Venturelli C., ²Mantovani G., ²Baraghini G.F., ¹Rumpianesi F.

¹Laboratorio di Microbiologia e Virologia,

²Ufficio Qualità, Azienda Ospedaliera Policlinico, Via del Pozzo 71, 41100 Modena

Il nostro laboratorio ha intrapreso il percorso per lo sviluppo e la realizzazione di un Sistema Qualità nel 1998. L'obiettivo era l'adeguamento ai requisiti dell'accreditamento istituzionale Regionale (D.Lgs. 229 e 517) e nel caso se ne creassero le condizioni la sua certificazione secondo la normativa UNI EN ISO 9002.

Tutto questo si è sviluppato con il supporto dell'Ufficio Qualità dell'Azienda che ci propose di partecipare ad una sperimentazione per giungere ad una Certificazione

“Evoluta”. Il Sistema qualità alla base di tale tipo di certificazione è una risposta ad un uso troppo “burocratico” delle norme ISO 9000 ed è basato essenzialmente sulla misurazione dell'efficacia del lavoro attraverso una “revisione tra pari”, sulla valorizzazione del ruolo del Laboratorio nel rapporto con i Clinici (produzione di linee guida; iniziative di audit, ecc) e sulla partecipazione a progetti per la valutazione dell'uso appropriato delle risorse. Le principali tappe del lavoro sono state: scrivere una “mission” e definire degli obiettivi coerenti con questa; coinvolgere gli operatori; acquisire una mentalità che portasse a pianificare gli obiettivi ed a verificarli periodicamente.

Il Sistema è stato sottoposto a verifiche ispettive interne ed esterne ed ha ottenuto la Certificazione nel dicembre 2002.

Il sistema qualità certificato è caratterizzato da:

- Presenza nelle Visite Ispettive oltre che di un sistemista, anche di un autorevole esperto del settore per verificare l'efficacia del lavoro
- Costante lavoro di consulenza con i Clinici, con produzione di Linee Guida per la definizione di percorsi diagnostici appropriati
- Costante verifica della attività mediante Audit clinici ed azioni mirate con i reparti
- Gestione degli eventi indesiderati nella fase pre-analitica, analitica e post analitica
- Verifica della customer satisfaction dei clienti interni

La Certificazione “Evoluta” è una strategia e una esperienza che ci permette di tendere insieme al miglioramento continuo, alla soddisfazione dei clienti interni e, soprattutto, di confrontarci con autorevoli professionisti sulla correttezza del nostro approccio, con il risultato di sentirci confortati sulla validità del nostro sistema qualità ma anche delle nostre competenze professionali e questo, fa la differenza.

M074

ATTIVITA' DI CEFTAZIDIME E TOBRAMICINA IN ASSOCIAZIONE CON VANCOMICINA NEI CONFRONTI DI PSEUDOMONAS AERUGINOSA.

Bertero F, Dho G, Marchese A., Debbia E.A.

Sez. di Microbiologia, Università di Genova.

Le infezioni sostenute da *P.aeruginosa* sono difficili da trattare a causa della sempre più frequente multi-resistenza agli antibiotici di questo patogeno. Per valutare nuove possibili opzioni terapeutiche, il ceftazidime (CAZ) e la tobramicina (TOB) sono stati saggiati in combinazione con la vancomicina (VAN).

Almeno 109 CFU/ml sono state seminate su piastre contenenti una concentrazione fissa di VAN (500 mg/L) e dosi scalari (2x, 4x, 8x, e 16xMIC) di CAZ o TOB. I sopravvissuti sono stati contati dopo 48 ore a 37°C. I risultati sono stati interpretati come sinergismo (99%), additività (90%) e indifferenza (0-10%) sulla base della riduzione delle CFU/ml ritrovate con gli antibiotici in combinazione rispetto al singolo composto.

CAZ in combinazione con VAN ha reagito in modo sinergico in 5/18 casi, additività è stata trovata in 10/18 interazioni e 3 saggi su 18 hanno mostrato indifferenza. Quando TOB è stata aggiunta a VAN è stato registrato sinergismo in 2/18 casi, 7/18 interazioni sono risultate additive e le rimanenti 9 hanno mostrato una reazione indifferente. La concentrazione di VAN (500mg/L) è stata quella che ha dato i risultati riproducibili rispetto a dosi inferiori.

VAN ha dimostrato di interagire in modo favorevole con gli altri antibiotici saggiati nei confronti di *P.aeruginosa*. Questo

dato può suggerire una nuova e interessante opzione per il trattamento di questo patogeno specialmente in situazioni dove questi farmaci possono essere amministrati per via topica. La possibilità di usare VAN in condizioni meno restrittive è oggetto di studio a causa del modo d'azione di questa molecola che raramente seleziona microrganismi resistenti.

M075

IL CONTROLLO DI QUALITÀ NELL'IMPIEGO DELLA PCR APPLICATA ALLA DETERMINAZIONE QUALITATIVA DELL'HCV-RNA.

Giuliani G., Drago L., Musardo P., Gismondo MR.

Laboratorio di Microbiologia, Azienda Ospedaliera-Polo Universitario “Ospedale Luigi Sacco” Milano.

La PCR rappresenta uno strumento largamente diffuso nei laboratori di Microbiologia Clinica, specialmente quando applicato alla diagnosi ed al monitoraggio di infezioni virali come quella da HCV.

Va comunque sottolineato che la PCR e le tecniche ad essa correlate, nonostante i tentativi di automazione, sono ancora in una fase *artigianale* in cui l'esperienza ed il bagaglio tecnico dell'operatore rappresentano ancora la variabile più importante per la buona riuscita del dosaggio.

Nasce così l'esigenza di standardizzare quanto più è possibile i tests molecolari utilizzati, adottando criteri di Controllo di Qualità.

A tal fine si è voluto allestire una serie di esperimenti in grado di valutare e gestire le problematiche della PCR applicata alla determinazione qualitativa dell'HCV-RNA.

Materiali e metodi: per lo studio sono state utilizzate 2 preparazioni HCV-RNA lotto *ISS0498* (HCV-RNA genotipo 1, 1.700 UI/ml) e lotto *ISSHC* (HCV-RNA genotipo 1, 10.000-20.000 UI/ml) distribuite dal Reparto Prodotti Immunologici (Laboratorio Immunologia, Istituto Superiore di Sanità, Roma) ed allestiti i seguenti esperimenti: 1. Detection Limit (cut-off): sono state allestite 5 serie indipendenti di diluizioni alle concentrazioni finali di 150UI (30 pool), 100UI (30 pool), 50UI (30 pool), 32UI (30 pool), 10UI (30 pool). 2. Robustezza: 4 sedute analitiche di un pannello di 10 pool di plasma HCV-RNA/anti HCV negativi portati alla concentrazione finale 3x cut-off. 3. Cross-contaminazione: 5 sedute analitiche di un pannello di 20 pool di plasma (10 pool negativi e 10 pool positivi alla concentrazione di 1000-2000UI/ml). Per la determinazione dell'HCV-RNA è stato utilizzato il Kit Cobas AmpliScreen™ HCV Test, v.2.0 (Roche Diagnostics).

Risultati e Conclusioni: i risultati hanno dimostrato che l'adozione di definiti criteri di controllo di qualità permettono: a) di calcolare, all'interno del proprio laboratorio (run-control), il reale livello di sensibilità della tecnologia utilizzata, indipendentemente dal valore di cut-off indicato sul kit commerciale (nel nostro studio: detection limit 32UI/ml); b) di esprimere i concetti di affidabilità di una tecnologia e di attendibilità dei risultati valutandone la robustezza (nel nostro studio: 100%); c) quantificare la percentuale di cross-contaminazione all'interno del proprio laboratorio (nel nostro studio: 1%).

M076

L'ORGANIZZAZIONE NEL LABORATORIO DI MICROBIOLOGIA SECONDO IL MODELLO ISO 9000:2000: LA GESTIONE E IL CONTROLLO DEI PROCESSI

Paparella C., La Mancusa R., Spanò A.

Servizio di Microbiologia, Virologia ed Immunologia -
Ospedale Sandro Pertini, Via Tiburtina 385 00157 - Roma

Nel processo di cambiamento, dettato dal passaggio dalle vecchie norme del 1994 alle ISO 9000: 2000 viene enfatizzato un principio di gestione della Qualità che è quello della organizzazione dei Servizi in termini di articolazione per processi.

In questa ottica il nostro Laboratorio ha affrontato il passaggio alla nuova norma cercando di costruire una visione sistemica delle attività come un insieme di processi interfacciati e la cui gestione è finalizzata al perseguimento di obiettivi misurabili e correlabili con gli obiettivi aziendali.

La capacità di gestire il sistema di processi in modo controllato con efficienza, affidabilità e valore aggiunto, significa in primo luogo conoscere e tracciare la mappa dei processi che caratterizzano l'attività del Servizio.

Nel nostro laboratorio di Microbiologia abbiamo identificato processi principali e processi di supporto con alto valore aggiunto. Sia i processi principali che quelli di supporto sono interfacciati tra loro a creare una mappa di riferimento in cui sia le risorse tecnologiche che quelle umane possano collocarsi e riconoscersi.

I processi sono stati definiti con input e individuazione di responsabili, descritti nella sequenza delle fasi che li definiscono e correlati con altri processi in un'ottica di rapporto cliente-fornitore. Il modello risulta tanto più efficace quanto più sono esplicite le correlazioni tra i vari processi.

I processi principali individuati all'interno del laboratorio sono essenzialmente due: il primo riguarda l'attività diagnostica di routine mentre il secondo descrive l'attività di ricerca applicata alla Microbiologia Clinica. Tali processi primari vengono realizzati in maniera controllata attraverso Procedure Operative. I processi di supporto sono trasversali a tutto il laboratorio, essi descrivono la valorizzazione delle risorse umane, il controllo di gestione, la gestione di attrezzature e fornitori e la ricerca e lo sviluppo di nuove tecnologie. Le Procedure di Sistema descrivono in maniera controllata i processi secondari e le modalità ad essi connesse.

Infine ciascun processo è stato correlato con i punti della norma ISO 9000 per verificare che fossero soddisfatti tutti i requisiti richiesti.

M077

METODI DI CAMPIONAMENTO DELL'ARIA IN AMBIENTI OPERATORI PER IL CONTROLLO DELLA CONTAMINAZIONE E LA VALUTAZIONE DI SISTEMI DI STERILIZZAZIONE

Sarnelli B., Morelli M. L., Abate R., De Luca R., Ingala F.

Laboratorio di Patologia Clinica e Microbiologia - P.O. "Ascalesi"
Via E. a Forcella 31- 80139 Napoli

Obiettivi. Valutare l'efficacia e la rappresentatività di diverse metodologie di campionamento dell'aria prelevata in una sala operatoria per sottoporla ad analisi microbiologica; inoltre, valutare la capacità di mantenimento di idonee condizioni microbiologiche ambientali da parte di un impianto di sterilizzazione "a ricircolo" di nuova introduzione nella nostra Struttura: *STERILITE Air Blu* della Sterilite S.r.l. (Milano), il quale sottopone l'aria aspirata ad irradiazione (con 4 lampade germicide UV-C) e filtrazione.

Materiali e metodi. Sono stati eseguiti in 11 sedute diverse un totale di 132 prelievi di aria in una Sala Operatoria di circa 120 m³, mediante un campionatore *SAS (Surface Air System)* della P.B.I. International, in grado di convogliare volumi fissi di aria direttamente su piastre contenenti terreno "Agar contact" della stessa Ditta, su cui è stata valutata la carica microbica di ciascun campione dopo incubazione per 48 ore a 37°C. Per ogni seduta, sono stati eseguiti prelievi:

- in tre diversi punti del locale,
- sia in assenza che in presenza del paziente;
- sia in corso che in assenza di trattamento con lo *Sterilite*.

Risultati. La Tabella 1 descrive sinteticamente parte dei risultati ottenuti nelle diverse condizioni di campionamento, considerando le rispettive medie dei valori di UFC/m³ e valutando la significatività statistica (*p*) delle differenze tra le medie.

Conclusioni. Il protocollo di campionamento adottato evidenzia l'utilità della comparazione dei dati ottenuti in presenza ed in assenza di paziente ed operatori: la media delle cariche microbiche in assenza di paziente (59 UFC/m³), rientrando nei parametri di Classe III (≤ 75 UFC/m³), potrebbe indurre a classificare l'ambiente in maniera poco rappresentativa del rischio; in realtà i valori medi in corso di attività operatoria (204 UFC/m³) vanno ben oltre i limiti di accettabilità.

Molto più rappresentativa è l'analisi che tiene conto della media complessiva delle misurazioni effettuate su prelievi distribuiti tra le due condizioni (*sala vuota* e *sala attiva*). La media risultante, nel caso di *aria non trattata* (135,83 UFC/m³), conduce ad un giudizio complessivamente più severo sul rischio per il paziente.

Nel caso di *aria trattata* con il sistema *Sterilite*, la media delle misurazioni in "sala attiva" (40,83 UFC/m³) riconduce alla Classe III, mentre la media complessiva (14,72 UFC/m³) rientra nell'ambito dei parametri di Classe II (≤ 15 UFC/m³), risultati che in ogni caso evidenziano *differenze significative* rispetto alle condizioni di aria non trattata ($p < 0.001$).

Tabella 1

	CAMPIONI N.	ARIA NON TRATTATA (MEDIA UFC/m ³)	ARIA TRATTATA (MEDIA UFC/m ³)	Differenza % tra le medie	P
PAZIENTE PRESENTE	65	203.95	40.83	80%	<0.001
PAZIENTE ASSENTE	67	59.71	1.67	97%	<0.001
MEDIA COMPLESSIVA	132	135.83	14.72	89%	<0.001

M078

**STAPHYLOCOCCUS SPP
OXACILLINO-RESISTENTI
IN 7 OSPEDALI ROMANI**

¹Carletti M., ²Fontana C., ³Raponi G., ⁴Falco S., ⁵Malvatani S.,
⁶Gallo M.T., ⁷Ballardini M., ⁸Testore G.P

¹OBPG-IRCCS Lab.Analisi Palidoro. ²Uni.Tor Vergata.Microbiologia,
³Uni."La Sapienza", S.S.An. Microbiol. I ⁴RMC-S.Eugenio
⁵RMC-CTO-Microbiologia, ⁶I.F.O. San Gallicano IRCCS.
⁷ACO S.F.Neri UOC Microbiologia. ⁸Uni.Tor Vergata-M.Infettive.

Introduzione. In questo studio viene riportata l'incidenza e la resistenza alle penicilline (ox-res) di stafilococchi (staf) isolati da campioni clinici pervenuti in 7 microbiologie romane, appartenenti al gruppo di studio sulle Resistenze Batteriche nelle Infezioni Ospedaliere (SEERBIO).

Materiali e Metodi. Gli antibiogrammi (ATB) sono stati eseguiti nel periodo 2001-02 su ceppi clinici tramite sistemi automatici e riuniti in unico database.

Risultati. Sono stati analizzati 6754 staf. (23% su 28.830 ATB totali) di cui 3102 (46%) oxa-res. Aumento di staf del 2% nel 2002 ma con diminuzione degli oxa-res del 2% rispetto al 2001. Il maggior numero di Staf-oxa-res è stato isolato nelle rianimazioni (ICU, 69%) e nelle Chirurgie (61%) con diminuzione del 10% nel 2002. Tale riduzione riguarda anche: medicine -6%, ambulatori -1%, ematologie -62%, DH -1%. Il 16% degli staf di cui 17% oxa-res deriva da campioni ambulatoriali. Le ICU hanno l'incidenza maggiore di *S.aureus* Oxa-res (63% media, 68% 2001, 59% 2002), le chirurgie (48% media, 56% 2001, 42% 2002), le medicine (25% media), DH (16%), le ematologie (15%) e gli ambulatori (12%). Tra i coag.neg. *S.epi.* rappresenta il 55% del totale seguito da *S.haemo.* (15%) e *S.hom.* (8%). La oxa-res nei coag. neg. è variata nel periodo d'osservazione (55% nel 2001 e 40% nel 2002). Tra i coag.neg isolati l'oxa-res è almeno del 35%, massima in *S.xilosus* (75%) seguito da *S.haem.* (62%) e *S.epid.* e *S.hom.* (57%). Inoltre, si è notata la presenza di *S.haem* resistenti alla teicoplanina (12% nel 2001 e 16% nel 2002).

Discussione. Accanto alla riduzione della oxa-res nel 2002 si è osservato che il 16% degli staf ambulatoriali è oxa-res, dimostrando una diffusione extraospedaliera del problema. Tuttavia, l'oxa-res nelle ICU e nelle chirurgie permane elevata. Infine l'incidenza di ceppi teico-resistenti può rendere il trattamento più complesso.

M079

**PREVALENZA MARCATORI SIEROLOGICI HBV
ED HCV NEGLI OPERATORI SANITARI - A.S. N. 6
DI LAMEZIA TERME**

C. Leone R.A.¹, Minchella P.¹, Nisticò S.¹, Potente G. I.¹,
Caruso D.¹, Miceli D.², Cosentino¹

¹U.O. di Microbiologia e Virologia -

²Sorveglianza Sanitaria - A.S. n. 6 Lamezia Terme (CZ)

Introduzione Gli operatori sanitari sono una categoria a rischio per l'acquisizione occupazionale di infezioni virali trasmissibili per via parenterale, sia per esposizione mucocutanea a sangue o fluidi corporei durante le comuni attività lavorative, sia per esposizione percutanea negli infortuni a rischio biologico che, nonostante l'applicazione di misure

preventive, possono ancora verificarsi. Tra le infezioni occupazionali quelle da virus dell'Epatite B (HBV) e dell'Epatite C (HCV) rappresentano un problema rilevante, ma ancora pochi sono i dati riguardanti l'attuale situazione epidemio-miologica in ambito sanitario.

Scopo di questo lavoro è valutare la prevalenza dei marcatori di infezione virale da HBV e HCV negli operatori sanitari sottoposti a controllo nel periodo 1999-2003 presso l'U.O. di Sorveglianza Sanitaria, monitorati sierologicamente presso l'U.O. di Microbiologia e Virologia dell'Azienda Sanitaria n. 6 di Lamezia Terme.

Materiali e metodi Sono stati presi in considerazione 990 operatori sanitari che svolgono attività lavorativa in 2 Presidi Ospedalieri e negli Ambulatori territoriali. Si è voluto porre attenzione al rischio di esposizione soprattutto durante gli anni di attività lavorativa, pertanto sono stati esclusi dal computo finale quei dipendenti che già al momento dell'assunzione presentavano pregressa infezione HBV (n. 27) o anticorpi anti-HCV (n. 6); il numero preso in considerazione per la valutazione, quindi, è stato di 963 dipendenti per i marcatori sierologici di HBV e di 984 per gli anticorpi anti-HCV. I sieri sono stati analizzati per la presenza di HBsAg, HBeAb totali, HBsAb ed anti-HCV, mediante metodo enzimatico a cattura di microparticelle (MEIA) su analizzatore AxSYM (Abbott). I campioni risultati reattivi al test di screening anti-HCV-3 di terza generazione sono stati sottoposti a test di conferma RIBA (Ortho-Clinical Diagnostics).

Risultati L'indagine, riguardo la presenza dei marcatori sierologici HBV e HCV nel personale sanitario, suddiviso in 3 aree di attività (1] con manovre invasive, 2] senza manovre invasive e 3] laboratori) ed in 4 categorie professionali (Dirigenti [D], Infermieri [I], Tecnici [T] ed Ausiliari [A]), ha dato i risultati di seguito illustrati (tabella I):

Tabella I: Infezione pregressa HBV

Area	D(%)	I(%)	T(%)	A(%)
1	4,9		11,7	13,4
2	3,2		8,1	15,6
3	16,1		9,5	11,1
Infezione cronica HBV				
1	0		0,65	0
2	1,05		0	0
3	0		0	0
Reattività anti-HCV				
1	0		0	1,0
2	1,0		1,7	1,5
3	0		0	6,3

Discussione e Conclusioni Dai dati ottenuti si può evidenziare che la prevalenza media di infezione pregressa HBV, valutandola tra tutti gli operatori sanitari, è del 10,1% circa; mentre, tenendo conto dell'attività lavorativa, raggiunge il 16,1% tra i dirigenti ed il 12,5% tra i tecnici nell'area laboratorio, risultando correlata ad età anagrafica, durata dell'attività lavorativa, mancanza di protezione vaccinale ed epoca antecedente all'applicazione sistematica delle "precauzioni standard". La prevalenza media di infezione cronica HBV è bassa, 0,31% circa. Tra gli operatori sanitari della nostra Azienda la prevalenza media di anti-HCV è 1,42% circa, ma tra i tecnici dell'area laboratorio raggiunge il 6,3% circa non risultando, dai dati anamnestici, altri fattori di rischio extra-occupazionali. Il gruppo dei dipendenti con mansioni ausiliarie [A] dovrebbe essere valutato separatamente, in quanto le procedure di lavoro sono simili in tutte le aree di attività e non dovrebbero comportare diversità di rischio. La conoscenza dei dati epidemiologici e la valutazione dei rischi correlati alle diverse attività lavorative sono pertanto essenziali per pianificare programmi mirati di sorveglianza delle infezioni occupazionali e predisporre protocolli operativi.

M080**APPLICAZIONE DI UN PROTOCOLLO DI INDAGINE IGIENICO AMBIENTALE IN AMBITO OSPEDALIERO AI SENSI DEL D.LGS. 626/94.**

Mansi A., Paba E., Bruni R., Marcelloni A.M., Borrello P., Spagnoli G.

I.S.P.E.S.L. Dipartimento Igiene del Lavoro, Via Fontana Candida 1, 00040 Monteporzio Catone (RM).

Il D.Lg. 626/94 ha provveduto a richiamare l'attenzione sul problema della sicurezza negli ambienti occupazionali tra i quali rientra di diritto il settore assistenziale (personale medico, infermieristico, etc.). Al fine di definire un programma di prevenzione e riduzione dei rischi per operatori sanitari e pazienti sottoposti ad interventi, è stato applicato un protocollo sperimentale finalizzato alla valutazione dei livelli di contaminazione microbica presenti in otto sale operatorie di un'azienda ospedaliera romana.

I campionamenti microbiologici dell'aria e delle superfici sono stati effettuati nella condizione "AT-REST" (sala con tutti i servizi tecnologici funzionanti, equipaggiamenti ed arredi installati e funzionanti, senza operatori) ed in condizione "OPERATIONAL" (sala con tutti i servizi tecnologici funzionanti, equipaggiamenti ed arredi installati e funzionanti in presenza di operatori che svolgono normale attività lavorativa) in conformità alle Linee Guida ISPEL ed alle normative tecniche di riferimento (Federal Standard 209, Norma ISO 14644, Annex I of EU Guide to GMP).

Per la determinazione della carica microbica aerodispersa è stato utilizzato un campionario ad aspirazione attiva (SAS Super 100), mentre la carica microbica presente sulle superfici è stata valutata con un sistema di campionamento che prevede l'alloggiamento di piastre a contatto.

In alcune sale, nella condizione "AT-REST", sono stati riscontrati livelli di contaminazione microbica superiori ai limiti di accettabilità proposti nei documenti di riferimento. Nel corso delle sedute operatorie, la carica microbica è risultata particolarmente elevata con specie batteriche patogene *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella oxytoca* (2° gruppo di rischio Alleg. XI del DLgs. 626/94), saprofite (*A. lwoffii*, *Staphylococcus spp.*) e miceti appartenenti prevalentemente ai generi *Cladosporium* e *Penicillium*. La non conformità ai requisiti di filtrazione assoluta in alcune sale e l'elevato numero di persone suggeriscono l'attuazione di controlli periodici relativamente all'efficienza e al corretto posizionamento dei filtri oltre alla necessità di garantire corrette modalità comportamentali attraverso adeguata formazione del personale neoassunto, nonché aggiornamento periodico di quello già presente.

M081**SORVEGLIANZA DI UNA EPIDEMIA DA E. FAECIUM VANCOMICINA RESISTENTE (VRE) IN SETTE REPARTI DELL'OSPEDALE DI LEGNANO.**

Pellegata G., Romano S., Airaghi N., Bertinotti L.*, Marnati M.G., Viganò E.F*..

Servizio di Igiene, Epidemiologia e Controllo Infezioni Ospedaliere, *U.O. Microbiologia, A.O. "Ospedale Civile di Legnano" Legnano (MI)

Introduzione: Enterococchi Vancomicina resistenti (VRE) vengono frequentemente segnalati in letteratura quale agenti causali di infezioni nosocomiali ad andamento endemico. Tale patogeno, sorvegliato permanentemente nel nostro ospedale dal 1997, è comparso per la prima volta in forma epidemica nel gennaio 2003, interessando tredici pazienti degenti in sette reparti diversi del presidio ospedaliero.

Materiali e metodi: Tutte le infezioni sono comparse nel periodo tra gennaio e maggio 2003 in degenti ricoverati in reparti di Terapia Intensiva, Medicina, Nefrologia, Neurologia, Oncologia e Ortopedia. La PFGE eseguita su tutti i campioni colturali dei tredici pazienti ha identificato un unico clone. Fin dalla comparsa del primo caso è stato istituito uno specifico gruppo di lavoro del Comitato di Controllo delle Infezioni Ospedaliere (CCIO) al quale hanno partecipato i referenti medici ed infermieristici delle unità operative interessate dall'evento epidemico ed i componenti del gruppo operativo del CCIO (Medico ed Infermieri addetti al controllo delle infezioni ospedaliere, Microbiologo, Infettivologo, Igienista).

Tale gruppo ha programmato i seguenti interventi:

> indagine epidemiologica ed applicazione delle Precauzioni Standard e da Contatto come previsto dal protocollo d'isolamento aziendale per ogni paziente positivo al VRE, > disseminazione di specifiche linee guida CDC); > informazione mirata al personale assistenziale, > sanificazione e disinfezione ambientale e dei materiali sanitari, > screening per valutare il grado di colonizzazione comunitaria o nosocomiale nei pazienti ricoverati nei reparti coinvolti dall'evento epidemico, mediante l'esecuzione di tampone rettale al momento del ricovero e della dimissione, > controllo microbiologico ambientale dopo l'esecuzione degli interventi di sanificazione e disinfezione.

Risultati: La scelta di coinvolgere lo specifico personale sanitario nella pianificazione ed attuazione di strategie atte a contrastare l'evento epidemico ha permesso di effettuare interventi appropriati.

Conclusioni: L'indagine epidemiologica e gli accertamenti microbiologici hanno evidenziato l'origine nosocomiale dell'epidemia. L'assenza di nuovi casi a distanza di circa novanta giorni nel reparto di Terapia Intensiva conferma il ruolo di vettori dei pazienti ricoverati.

M082

STUDIO CON GENOTIPIZZAZIONE DI UNA EPIDEMIA NOSOCOMIALE DA *E.FAECIUM* VANCOMICINA RESISTENTE (VRE)

Vigano' E.F., Bertinotti L., Vasconi E., Agrappi C., Pellegata G.*, Romano S.*

U.O. Microbiologia, *Servizio Igiene, Epidemiologia e Controllo Infezioni Ospedaliere, A.O. "Ospedale Civile di Legnano" - Legnano (MI)

Introduzione - L'analisi del DNA con epidemiologia molecolare consente di riconoscere una epidemia e di identificare le modalità di diffusione nell'ospedale.

Descriviamo la 1° epidemia da *E.faecium* Vancomicina resistente osservata a Legnano nel 2003 in 13 pazienti e studiata con la Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE)

Obiettivi - identificazione con PFGE del genotipo dei ceppi di *E.faecium* VRE responsabili dell'epidemia, studio del tasso di colonizzazione da VRE nei nuovi ricoverati durante l'epidemia, ricerca e genotipizzazione dei VRE ambientali.

Materiali e metodi - isolamenti clinici: effettuati da emocolture, urinocolture, pus da ferita e punte da CVC con colture a protocollo;

identificazioni ed antibiogramma: con sistema Sceptor (BD) e verifica delle MIC con agar diffusione su M.H. con sistema E test (Biolife) per Vancomicina, Teicoplanina, HLR Gentamicina, HLR Streptomicina ricerca portatori VRE: tampone rettale in 5 ml di brodo selettivo Enterococcosel con 6 mg/L di Vancomicina, incubazione a 35°C per 48 ore, sottocoltura su Enterococcosel agar con 6 mg/L di Vancomicina per altre 48 ore;

PFGE: tipizzazione con enzima di restrizione SmaI e separazione in gel agarosio con strumento GenPath (Bio-Rad)

Risultati - Nel triennio 1999 - 2001 a Legnano il numero di infezioni da *E.faecium* è rimasto costante, con 34 - 38 casi all'anno, senza casi di VRE.

Nel 2° semestre 2002 abbiamo isolato un ceppo di *E.faecium* VRE da una urina da catetere (su 10 *E.faecium* isolati) mentre nei primi 3 mesi del 2003 la frequenza di infezioni è aumentata di 4 volte, con 30 casi di infezione da *E.faecium* di cui 9 casi di VRE.

Complessivamente dal 1/01/03 fino al 9/05/03 sono stati isolati 13 casi di *E.faecium* VRE da 7 reparti diversi.

La PFGE ha identificato un clone (A) per il caso del Settembre 2002 e un clone diverso (B) per tutti i 13 casi del 2003. La ricerca di portatori rettali di VRE, effettuata su 121 ricoverati dal 3/3 al 16/3 ha evidenziato 5 *E.faecium* VRE identici al clone B e 2 cloni diversi (C e D). Sono in valutazione altri 2 casi clinici di fine Maggio 2003, i controlli ambientali e la nuova ricerca di colonizzati, tuttora in corso.

Conclusioni - L'analisi con PFGE ha confermato la circolazione epidemica dello stesso ceppo batterico in più reparti, da contaminazione ambientale.

M083

VALUTAZIONE DELL'ESPOSIZIONE AD AGENTI MICROBICI AERODISPERSI IN 5 IMPIANTI LOMBARDI DI TRATTAMENTO DELLE ACQUE REFLUE URBANE, DIVERSI PER CAPACITA' NOMINALE E CARATTERISTICHE TECNICO-STRUTTURALI

Facchini M., Scarazatti E., Basilico S.*, Bocchi G.*

U.O. Microbiologia e *) Dipartimento di Medicina del Lavoro, Azienda Ospedaliera "Istituti Clinici di Perfezionamento" - Milano

La sorveglianza delle condizioni di igiene e salubrità nell'ambito degli impianti di depurazione delle acque reflue di agglomerati urbani riveste rilievo critico sia per la tutela della salute dei lavoratori addetti, sia in termini di valutazione dell'impatto ambientale sostenuto da queste attività. Nel novero degli agenti di rischio potenzialmente presenti nelle acque di scarico (chimici, fisici e biologici), i rischi di natura biologica rappresentano una peculiarità costante delle acque reflue urbane per la presenza di batteri, virus, protozoi ed elminti con caratteristiche infettive, allergogene e tossinogeniche rilevanti.

La presente indagine, articolata nell'arco di un biennio, ha avuto come scopo la valutazione della contaminazione microbiologica aerodispersa in cinque impianti di depurazione dell'area del nord-Milano (capacità nominale da 50.000 a 350.000 ab./equiv. e caratteristiche strutturali differenti per ciò che riguarda l'ossidazione dei liquami), per la stima dell'esposizione nei lavoratori addetti e nella popolazione residente nelle vicinanze. La prassi operativa e i materiali e metodi utilizzati per l'indagine sono analoghi a quelli riportati nella ns. precedente pubblicazione (I fase dello studio) alla quale si rimanda. Le rilevazioni quali-quantitative della diffusione degli aerosol batterici nell'aria sono state eseguite in totale in 99 punti di campionamento. I parametri monitorati comprendono: carica batterica totale (CBT), Gram-negativi totali (GNT), coliformi totali (CT) e fecali (CF), streptococchi fecali (SF); i valori di CBT sono stati assunti come indicatori di possibile esposizione ad aerosol batterici.

Risultati. La contaminazione microbica aerodispersa evidenziata è risultata nel complesso di ordine limitato, in termini assoluti; tuttavia, si è osservata una certa variabilità nella disseminazione batterica da un impianto all'altro, principalmente condizionata dalle diverse caratteristiche tecnico-strutturali dei diversi insediamenti. Infatti in quello di più recente progettazione e costruzione, i monitoraggi effettuati nei punti ritenuti significativi hanno fornito gradi di contaminazione estremamente limitati (compresi nell'intervallo tra 10 e 65 UFC/m³), mentre negli altri - ed in particolare quello in cui l'ossidazione dei liquami avviene per l'azione di eliche rotanti su vasche scoperte - la contaminazione è risultata relativamente più elevata, nell'ordine di 50-1200 UFC/m³

Conclusioni. Gli impianti di depurazione delle acque reflue urbane si confermano quale possibile sorgente di aerosol contaminati da agenti biologici. Risulta tuttavia evidente il ruolo dirimente degli aspetti strutturali e procedurali nel contenimento e progressivo abbattimento della disseminazione microbica già in corrispondenza delle sorgenti di contaminazione.

Pur se nel loro complesso le evidenze discusse non configurano un quadro tale da pregiudicare l'igiene e sicurezza degli ambienti di lavoro indagati né da rappresentare rilievo critico in termini di impatto ambientale, tali dati confermano l'efficacia delle misure progettuali e tecniche per la sempre miglior salvaguardia della salute umana nell'ambiente di vita e di lavoro.

M084**IMPORTANZA DEI FLUSSI INFORMATIVI NELLA SORVEGLIANZA DELLE MALATTIE INFETTIVE SOGGETTE A NOTIFICA.**

Sala A.¹, Pianetta C.¹, Polvara D.¹, Vaiani R.¹, Folsi A.²,
Tentori C.², Chiappa L.²

¹Laboratorio Patologia Clinica II - Microbiologia,
Azienda Ospedaliera "A. Manzoni"
Via dell'Eremo 9/11 - 23900 Lecco

²Direzione Sanitaria, Azienda Ospedaliera
"A. Manzoni" Via dell'Eremo 9/11 - 23900 Lecco

E' operante presso il nostro Ospedale un sistema di sorveglianza epidemiologica delle malattie infettive soggette a notifica obbligatoria - in accordo alle normative vigenti - a partire dalla segnalazione della Microbiologia del microrganismo ritenuto responsabile.

La segnalazione in via breve (tra le 12 e le 48h) viene effettuata su apposito modulo cartaceo - normato ISO 9000 - all'Ufficio Sorveglianza Sanitaria (USS) e Controllo Infezioni Ospedaliere (CIO), recante le informazioni anagrafiche del paziente, la tipologia, provenienza e data d'invio del campione, la data di esecuzione dell'analisi e il criterio diagnostico.

Il successivo percorso si materializza nella compilazione d'una scheda di rilevazione dei dati del paziente, corredata da informazioni cliniche raccolte dall'USS direttamente nella U.O. interessata. Quindi scattano i provvedimenti necessari (applicazione di protocolli, misure precauzionali universali e strategie specifiche) che vengono registrati sulla stessa scheda.

Il dato microbiologico tempestivamente comunicato alla U.O. per via telefonica, attiva il Medico Curante che procede alla notifica di Malattia Infettiva alla Direzione Sanitaria (D.S.) tramite il tradizionale modello MB.

La D.S., a sua volta inoltra il dato all'ASL Locale e/o ad altre Autorità Sanitarie nel caso di sindromi infettive per le quali necessita la compilazione di apposite schede di rilevazione e/o dell'invio di ceppi batterici, vetrini o campioni biologici.

Per la verifica dei percorsi sono state rivisitate le 364 segnalazioni per via breve effettuate dalla Microbiologia nel periodo Gennaio 2002 - Aprile 2003, in base agli accertamenti diagnostici, riferiti ai pazienti in regime di ricovero ordinario e Day-Hospital.

Dalla analisi stratificata per U.O., materiale, tipo di indagine e microrganismo più frequentemente in causa emergono principalmente i seguenti dati: dei 60 esami colturali 42 sono riferibili a Salmonella; delle 40 indagini sierologiche 19 riguardano la Mononucleosi. Delle 193 ricerche di antigeni/tossine 101 riguardano le tossine A e B del C. difficile e 41 i Rotavirus. Le ricerche positive per Micobatteri e per Parassiti sono risultate rispettivamente 16 e 15.

La nostra esperienza basata sulla tracciabilità e distribuzione dei percorsi informativi è risultata efficace proprio nel favorire il controllo alla prevenzione delle malattie infettive diffusibili in ambito nosocomiale.

E' noto che la mancata segnalazione può ripercuotersi negativamente in termini economici.

M085**UN REPORT DI MICROBIOLOGIA PER INIZIARE IL PERCORSO DEL CONTROLLO DELLE INFEZIONI OSPEDALIERE**

A. Gambi, G. Tomei, E. Marrone, V. D'Amico,
G. Mantini, S. Martinotti

Laboratorio di Patologia Clinica II
Ospedale Clinicizzato SS. Annunziata Chieti

Scopi e obiettivi

Negli ultimi anni la resistenza antimicrobica è diventata uno dei problemi più gravosi per la Sanità pubblica.

In questo contesto il laboratorio di microbiologia ha acquistato un ruolo molto importante nel controllo e nella sorveglianza delle infezioni ospedaliere che si attua con l'identificazione dei ceppi sentinella.

L'aumento di resistenza dovuto in parte anche all'introduzione di nuovi antibiotici si associa sia all'incremento dei casi di morbidità e mortalità sia all'aumento dei costi di degenza ospedaliera. Questa realtà complessa necessita di un approccio diretto sia verso il controllo delle infezioni nosocomiali sia verso la regolamentazione dell'uso di antibiotici.

Lo sviluppo di nuove strategie di controllo delle resistenze hanno sottolineato l'importanza di una stretta collaborazione tra reparti, laboratorio di microbiologia, farmacia e Direzione Sanitaria al fine di attuare un programma efficace che rientri come obiettivo del percorso della qualità nel servizio di microbiologia e dell'Azienda tutta.

Materiali e metodi

Abbiamo valutato, nell'ambito della sorveglianza delle infezioni ospedaliere le resistenze e i rispettivi trend di isolamento dei seguenti ceppi: *Pseudomonas aeruginosa* resistente ai chinolonici, gli stafilococchi aurei meticillino-resistenti (MRSA) e enterococchi vancomicina resistenti (VRE) dal 1 gennaio 2003 al 31 Maggio 2003.

L'indagine è stata condotta sia per tutta l'Azienda Sanitaria (totale assoluto) che per il singolo reparto (rapporto cumulativo per categoria).

Risultati

Ogni reparto ha ricevuto a fine trimestre un report con riportati il numero di esami inviati divisi in positivi e negativi, il trend di isolamento dei ceppi sentinella con le percentuali di antibioticoresistenze ed il nome del paziente a cui si riferisce il germe. Semestralmente verrà inviato un report di tutti i germi alla Direzione sanitaria diviso per reparto.

La Figura 1 riporta il risultato globale suddiviso per i reparti di degenza e le relative % di Sensibilità e Resistenza dei germi selezionati

Conclusioni

Lo studio, appena iniziato ci ha permesso di conoscere il trend di isolamento e l'andamento delle sensibilità e resistenze per i ceppi in esame per reparto. In futuro nostro obiettivo sarà completare il report con tutti i batteri isolati per materiale per mettere in evidenza la popolazione batterica residente nel nostro ospedale responsabile di infezione.

Il report ha l'obiettivo di permettere al clinico di aver una maggiore e migliore conoscenza dei batteri selezionati nel proprio reparto al fine di ridurre con l'utilizzo di una giusta terapia antibiotica e con azioni di natura comportamentale, le infezioni ospedaliere.

M086

ESBL: PREVALENZA 2001-2002 IN SETTE OSPEDALI ROMANI (SEERBIO)

¹Meledandri M., ²Bove F., ³Carducci G., ⁴Malvatani S.,
⁵Ghezzi M.C., ⁶Pietravalle M., ⁷Fontana C., ⁸Testore G.P.

¹ACO S.F.Neri UOC Microbiologia, ²RMC-S. Eugenio ³OBPG-IRCCS Lab. Analisi Palidoro ⁴RMC-CTO - Microbiologia

⁵Uni. La Sapienza, S.S.An. Microbiol. I

⁶I.F.O. San Gallicano IRCCS, ⁷Uni. Tor Vergata-Microbiologia,

⁸Uni. Tor Vergata - M. Infettive.

Introduzione. Le β -lattamasi a spettro esteso (ESBL) rappresentano importanti meccanismi di resistenza nelle *Enterobacteriaceae*, la cui frequenza varia per area geografica. Riportiamo la prevalenza di ESBL nel 2001-2002, tra le *Enterobacteriaceae* di 7 microbiologie romane del gruppo di Studio sulle Resistenze Batteriche nelle Infezioni Ospedaliere (SEERBIO).

Materiali e Metodi. Identificazioni e antibiogrammi sono stati eseguiti nel 2001-02 su materiali clinici, mediante sistemi automatici, e riuniti in unico database. Gli isolati di *Enterobacteriaceae*, resistenti al ceftazidime e sensibili a cefoxitina, sono stati considerati produttori di ESBL. È stato escluso *Enterobacter*, poiché dotato di sistemi vari di resistenza.

Risultati. Sono state isolate 10.421 *Enterobacteriaceae*, appartenenti a 17 generi. Il 13% dei ceppi erano ESBL. I più isolati (89% del totale) sono stati i generi *Escherichia* (62%, ESBL 5%), *Proteus* (14%, ESBL 29%) e *Klebsiella* (13%, ESBL 14%). La prevalenza per area è stata: rianimazioni 32%, medicine 22%, chirurgia 19%, ambulatori 15%. I materiali sono stati urine (48%), espettorato (10%), sangue e t.vaginale (6%), pus (5%). Nelle rianimazioni i materiali sono stati urine (41%), broncoaspirato (34%), sangue (5%) e BAL (4%). I ceppi ESBL resistenti a ciprofloxacina, amoxicillina-acido clavulanico e cotrimoxazolo sono stati rispettivamente 52%, 67% e 37%. Nel 2002 è stata osservata una diminuzione di ESBL: *Escherichia* -1%, *Proteus* -8%, *Klebsiella* -12%.

Discussione. Il programma di sorveglianza SENTRY riporta una frequenza di *K. pneumoniae* ESBL del 45% in America Latina, contro il 7% degli Stati Uniti (con differenze locali). I nostri dati evidenziano una prevalenza del 13%, con un picco del 32% nelle rianimazioni, nonché una variazione annuale. Il genere più frequente è stato *Proteus*. I ceppi ESBL hanno presentato resistenza anche ad altri farmaci. È stata rilevante la frequenza di ESBL tra i pazienti esterni. Il nostro contributo riguarda circa 3.500 letti di ricovero in Roma e pone le basi per future valutazioni sull'andamento delle resistenze nella capitale.

M087

INCIDENZA DI INFEZIONI UROGENITALI DA MICOPLASMI IN PAZIENTI AMBULATORIALI, AUSL LE/I, LECCE

B. Ciannamea¹, G. Leo², M. Megha¹, G. Miragliotta³

¹Unità Operativa di Microbiologia e Virologia AUSL/LE, I

²Unità Operativa di Oncologia Sperimentale

³Cattedra di Microbiologia, Dipartimento MIDIM, Università degli Studi di Bari

Mycoplasma hominis ed *Ureaplasma urealyticum* vengono

isolati con elevata frequenza dal tratto urogenitale e sono associati a diverse sindromi cliniche quali uretriti non gonococciche, prostatiti, salpingiti, PID, pielonefriti, infertilità, parto pretermine e aborti ripetuti.

Obiettivo del nostro studio è stato quello di valutare la frequenza di isolamento di *M. hominis* ed *U. urealyticum* e la loro sensibilità antibiotica in vitro.

Sono stati presi in esame 1147 campioni (tamponi vaginali, uretrali, liquido seminale, urine) pervenuti al nostro laboratorio nel periodo gennaio 2002 - aprile 2003.

Il metodo utilizzato è il test "Mycoplasma IST 2" (bioMérieux) che permette di identificare *M. hominis* ed *U. urealyticum*, di definirne la carica e di valutare la sensibilità verso nove diversi antibiotici: 4 macrolidi (eritromicina, josamicina, azitromicina e claritromicina), 2 tetracicline (tetraciclina e doxiciclina), 2 fluorochinoloni (ofloxacina e ciprofloxacina), pristinamicina.

405/1147 (35,3%) prelievi prevalentemente endocervicali sono risultati positivi.

In particolare l'identificazione ha evidenziato infezione da *U. urealyticum* in 384 (94,8%), *M. hominis* in 14 (3,4%) e mista (*U. urealyticum* e *M. hominis*) in 7 (1,7%).

ANTIBIOTICI	Nr. batteri	Sensibili (%)	Intermedi (%)	Resist. (%)			
TETRACICLINA	405	399	99	1	0	3	1
DOXICICLINA	405	401	100	1	0	1	0
ERITROMICINA	405	340	84	1	0	47	12
JOSAMICINA	405	398	99	5	1	0	0
PRISTINAMICINA	405	401	100	0	0	1	0
OFLOXACINA	405	188	47	201	50	14	3
CIPROFLOXACINA	405	44	11	126	60	61	29
CLARITROMICINA	405	363	90	5	2	17	8
AZITROMICINA	405	325	80	30	14	11	5

Doxiciclina, tetraciclina, josamicina e pristinamicina sono risultati essere gli antibiotici più attivi in vitro.

M088

DIAGNOSI DI PROSTATITE CRONICA: IL RUOLO DEL LABORATORIO DI MICROBIOLOGIA

Restelli A.*, Colombo R.*, Rosa I.*, Arcuri C.*, Magri V., Scarazzati E.*

*U.O. Microbiologia, Istituti Clinici di Perfezionamento Milano,

°Ambulatorio Urologia, Istituti Clinici di Perfezionamento Milano

La prostatite cronica (PC) è una patologia urologica di frequente riscontro, la cui sintomatologia ha un notevole impatto sulle condizioni di vita dei pazienti. La diagnosi di tale patologia è spesso complessa e la terapia a volte non risolutiva. È possibile distinguere una forma "batterica" in cui è possibile isolare il microrganismo in causa e una forma "abatterica" in cui non viene isolato alcun agente patogeno. Gli agenti patogeni di infezione svolgono un ruolo importante nella eziologia delle prostatiti croniche: tutte le tipologie di microrganismi sono rappresentate: batteri, protozoi, miceti, virus. Il test diagnostico che rappresenta il "gold standard" per la diagnosi di PC è il test di Stamey e Mears che prevede la raccolta frazionata di campioni d'urina (VB1, VB2 e VB3) e del secreto ottenuto in seguito a massaggio prostatico (EPS): la diagnosi di PC è confermata dalla presenza in VB3 ed EPS di microrganismi in carica significativamente superiore a quella di VB1 e VB2. Nel periodo in esame (anno 2002) abbiamo esaminato n° 235 pazienti con diagnosi clinica ed ecografica di prostatite cronica: nel 26% (61

pazienti) dei casi è stato rilevato un agente patogeno mentre nel 74% (174 pazienti) dei casi non è stato rilevato alcun microrganismo. I microrganismi isolati sono stati: *E. coli* ed altre Enterobatteriacee nel 33% dei casi, *E. faecalis* nel 19%, *U. urealyticum* nel 13%, *S. agalactiae* nel 12% *C. trachomatis* nel 9%, *Candida spp.* nel 6%, *Haemophilus spp.* nel 4%, stafilococchi nel 3% e *G. vaginalis* nel 1% dei casi. Per quanto concerne l'elevata percentuale di forme "abatteriche", in cui l'origine infettiva potrebbe essere misconosciuta, l'obiettivo futuro del laboratorio microbiologico è quello di introdurre e sviluppare nuove metodiche di biologia molecolare per l'identificazione di altri microrganismi di cui si ipotizza un ruolo eziologico nelle prostatiti croniche.

M089

DESCRIZIONE DI UN CASO DI MENINGOENCEFALITE DA *LISTERIA MONOCYTOGENES*

Tiddia F., Ferraguti P., Sanna M. P., Corona R., Costa D., Pautasso M.

Laboratorio di Analisi Chimico Clin. e Microbiologia - P. O. S. Giovanni di Dio - A. U.S.L. N. 8 - Cagliari

Listeria monocytogenes (LM) bacillo gram-positivo, asporigeno, aerobio facoltativo, mobile a 25°C è ampiamente distribuito in natura, causa aborti nei primi mesi di gravidanza, sepsi e meningiti nei neonati per trasmissione materno-fetale e quadri meningei anche in soggetti adulti immunocompromessi, trapiantati, in terapia corticosteroidica, neoplastici. **Scopo:** descrizione di un caso clinico di meningoencefalite da LM in paziente immunocompromesso.

Caso clinico: paziente maschio, di anni 62, ricoverato presso la Clinica Neurologica del P.O.S. Giovanni di Dio di Cagliari per improvvisa ipertensione (39,5°), difficoltà nell'espressione verbale, cefalea, sonnolenza, lieve paresi dell'arto sup. dx., mioclonia. Operato sette mesi prima di angiosarcoma vertebrale con ripetizioni polmonari e sottoposto a ripetuti cicli di chemioterapia associata a cortisone. Dopo il ricovero, con sospetto diagnostico di meningoencefalite, vengono eseguiti ECG, EEG, TAC, RMN ed esame del liquor.

Materiali e metodi: l'esame citochimico del liquor mostrava lieve torbidità, con proteine (245 mg/dl) e glucosio (89 mg/dl) aumentati e cellularità quasi esclusivamente linfocitaria (170 cellule/μl). L'esame colturale standard, dopo 24 h, evidenziava su a. sangue Columbia in CO₂ al 5%, colonie piccole, grigie, traslucide, lievemente emolitiche. Al microscopio apparivano corti bastoncelli gram + disposti a palizzata. Arricchimento a freddo, motilità, tests biochimici e sierotipizzazione confermavano il sospetto di L.M. L'antibiogramma mostrava resistenza per: cefoxitina, ceftazidime, ceftriaxone, clindamicina, e sensibilità per: eritromicina, gentamicina, penicillina, piperacillina/tazob., trim./sulfam., claritromicina.

Risultati e conclusioni: Veniva instaurata terapia antibiotica con netilmicina e Piperacillina/Tazobactam con risposta rapida ed efficace, risoluzione dei disturbi di coscienza e RMN di controllo negativa.

Nonostante le ricerche restano oscure le modalità di contrazione dell'infezione.

M090

STRATEGIA DI PREVENZIONE DELLE SEPSI NEONATALI DA *STREPTOCOCCUS AGALACTIAE*

Tiddia F., Ferraguti P., Sanna M. P., Angioni G., Farci R., Vacca M., Pautasso M.;

Laboratorio di Analisi Chimico Cliniche e Microbiologia - P. O. S. Giovanni di Dio - A. U.S.L. N. 8 - Cagliari

Lo Streptococco β emolitico di gruppo B (SGB) o *Streptococcus agalactiae* causa gravi infezioni neonatali (sepsi precoce o tardiva e meningiti). Primitivamente localizzato al tratto gastroenterico e successivamente all'apparato genitourinario, si trasmette da madre a feto per lo più al momento del parto. I neonati con patologia da SGB necessitano di lunghe degenze e costose terapie e i costi per il loro *management* sono ben superiori a quelli relativi allo *screening* delle gravide. L'attuazione di una politica di prevenzione delle infezioni neonatali da SGB incontra resistenze nel territorio regionale sardo nonostante ne sia documentata l'efficacia.

Obiettivi. E' stata messa a punto e verificata, nell'arco di 8 mesi, una procedura di coltura, isolamento e identificazione di SGB per rilevare la percentuale di positività e migliorare l'accuratezza diagnostica.

Materiali e Metodi. Da Ottobre 2002 a Maggio 2003, nelle gestanti a termine pervenute all'ambulatorio della Clinica Ostetrica del P. O. S. Giovanni di Dio di Cagliari, nelle procedure microbiologiche per l'isolamento di SGB, alla coltura del tampone vaginale (TV), sono stati aggiunti il tampone rettale (TR) e il tampone vagino-rettale (TVR). Su 173 donne alla 38°-40° settimana di gestazione è stato applicato il nuovo protocollo: 1)- un TV esaminato secondo le procedure di routine; 2)- un TR seminato in Ag. sangue Columbia; 3)- un TVR seminato in Istant Granada Medium (IGM) e incubato a 37 °C per 18-48 ore.

Risultati. Sui 173 campioni esaminati le percentuali di isolamento di SGB sono: TV 6,3 % (11 positivi); TR 7,5 % (13 positivi), TVR 12,7 % (22 positivi).

Discussione e Conclusioni. Con l'esame colturale del TVR associato ad antibiotico profilassi intrapartum nessun neonato di madre colonizzata ha manifestato segni clinici di infezione precoce da SGB. Ciò dimostra: 1)- un significativo miglioramento della diagnostica microbiologica tradizionale legato all'uso di un terreno (IGM) che evidenzia la presenza di SGB già dopo 12-18 ore; 2)- una conferma, come raccomanda il CDC, della validità dello *screening* colturale eseguito sul solo tampone vagino-rettale.

M091

CEPPI DI *S. PYOGENES* ISOLATI DA TAMPONE FARINGEO: STUDIO DELLE SENSIBILITA' ANNI 2002-03

Cacciapuoti A., Cetta S., Colombini G., Franceschelli S., Corsi E., Banchi S.

Microbiologia Azienda Ospedaliera Senese, Via delle Scotte Siena

Sono stati presi in esame tutti i ceppi di *S. pyogenes* isolati da tampone faringeo per la prima volta e pervenuti al nostro servizio nel periodo febbraio 2002 aprile 2003. Le semine dei campioni sono state fatte su piastre CNA agar a cui è stato aggiunto un dischetto con Bacitracina. I ter-

reni sono stati poi incubati per 18 ore a 37°C in ambiente arricchito col 10 % di CO₂. Gli streptococchi beta emolitici inibiti dalla Bacitracina, identificati come sierogruppo A, sono stati quindi saggiati su terreni semisolidi contenenti antibiotici secondo le modalità previste dalla ditta produttrice della galleria. Il nostro campione di studio è risultato costituito da 121 isolati per l'anno 2002 e da 43 isolati per l'anno 2003. La percentuale di sensibilità per la Penicillina è stata del 90 % per l'anno 2002 e del 88 % per l'anno in corso. La percentuale di sensibilità per Eritromicina è stata del 50 % per 2002 e del 38 % per il 2003. La percentuale per Levofloxacin è stata del 98 % per 2002 e del 97 % per il 2003. La percentuale di sensibilità per CAF è stata del 95 % per l'anno 2002 e del 94 % per l'anno in corso. Non si sono rilevate resistenze né per Cefotaxime né Vancomicina. Le conclusioni che possiamo trarre sono che, accanto a percentuali di sensibilità quasi invariate per alcuni farmaci, si assiste ad una riduzione per la famiglia dei Macrolidi di cui viene testata l'Eritromicina. L'andamento di tale andamento dovrà essere confermato da ulteriori dati.

M092

VALUTAZIONE DELLE RESISTENZE DI CEPPI DI *ESCHERICHIA COLI* ISOLATI DA URINOCOLTURE

Montella F., di Salvo R., Picillo G., Iovene M.R.

Dipartimento di Medicina Sperimentale
Sez. Microbiologia - Servizio di Batteriologia Clinica
Dir. Prof. M.A. Tufano
Seconda Università di Napoli - Via Pansini, 5

Introduzione

L'urinocoltura rappresenta l'esame più richiesto al Laboratorio di Batteriologia Clinica. E' noto che l'80% delle infezioni nosocomiali del tratto urinario sono sostenute da batteri gram-negativi. La specie più frequentemente isolata è *Escherichia coli*.

Scopi

Gli obiettivi della ricerca sono stati: 1) valutare la sensibilità di ceppi appartenenti alla specie *E. coli* verso chemioantibiotici utilizzati nella terapia delle infezioni urinarie; 2) stimare le eventuali variazioni di sensibilità nel corso di 2 anni e 5 mesi di osservazione.

Metodologia

Da gennaio 2001 a Maggio 2003 sono stati isolati nel Laboratorio di Batteriologia Clinica della Seconda Università di Napoli 281 ceppi di *E. coli* da campioni di urine di pazienti di età compresa tra i 20 e 75 anni ricoverati presso le divisioni di Medicina Generale, Nefrologia, chirurgia generale e terapia intensiva.

I campioni sono stati inoculati in brodo eugonico (ALIFAX) e monitorati per 2 ore in apparecchio automatizzato "UROQUICK" (ALIFAX).

Tutte le urinocolture con carica microbica superiore a 100.000 UFC/mL sono state seminate su Agar Mac-Conkey, agar Sabouraud, Agar mannitolo + NaCl 5%, Columbia CNA agar, ed incubate a 37° per 24 ore.

L'identificazione biochimica e il saggio di sensibilità in vitro dei ceppi isolati sono stati effettuati rispettivamente con Card GNI+ e Card GNS 502 (Biomerieux). La lettura fotometrica delle card e la relativa interpretazione è stata eseguita con sistema automatizzato VITEK (Biomerieux). L'efficienza delle card è stata verificata con ceppo *E. Coli* N° 35218.

Risultati La percentuale di resistenza dei 281 ceppi di *E. coli*, per i chemioantibiotici saggiati, è stata negli anni 2001,

2002 e 2003 (5 mesi) la seguente:

%	AK	AMC	AMP	ATM	KF	CTX	CAZ	CIP	FOS
2001	0	22	45	13	22	0	0	12	1
2002	0	21	49	3	18	0	0	10	6
2003	0	25	57	9	57	2	2	15	2
%	CN	IPM	NA	F	NOR	PRL	TIM	TOB	SXT
2001	9	0	18	4	12	29	17	4	25
2002	8	0	19	3	10	31	17	4	32
2003	7	0	18	2	16	49	20	2	38

Conclusione

La prevalenza di resistenza osservata nel corso dello studio è in accordo con i dati ARSS. La percentuale annua delle resistenze risulta invariata nel 2001 e 2002. Si apprezza un maggiore aumento di resistenza verso AMP, KF, e PRL nei primi 5 mesi del 2003. Tuttavia questo dato parziale necessita di una conferma nei rimanenti 7 mesi del 2003. La conoscenza dei pattern di sensibilità dei ceppi di *E. coli* in ambito regionale e l'uso dell'antibiotico terapia mirata, consentirebbe di ridurre le resistenze prodotte da un uso improprio della terapia chemioantibiotica.

M093

DETERMINAZIONE DI *CHLAMYDIA TRACHOMATIS* SU LIQUIDO SEMINALE

Migali A., Latini L., Palma M., Silvestrini S., Rocchetti D., Quagliarini L.

Laboratorio Analisi dell'A.S.L. 4 Senigallia.

Le Clamidiose comprendono un gruppo di batteri, parassiti intra-cellulari obbligati, molto diffusi nel mondo animale. Sono batteri gram-negativi, immobili, che si moltiplicano nel citoplasma delle cellule infettate con caratteristico ciclo di sviluppo che le differenzia dagli altri batteri intra-cellulari. La sopravvivenza delle Clamidiose in ambiente intra-cellulare sembra dovuta alla capacità di inibire la fusione dei lisosomi con il vacuolo fagocitario che contiene il parassita al momento dell'ingresso nella cellula. Nella cellula infetta le Clamidiose provocano un parziale blocco delle sintesi molecolari ed in particolare del DNA, attraverso una competizione per il pool intra-cellulare dei precursori.

Il materiale genetico della *C. trachomatis* è composto di un cromosoma circolare di DNA a doppio filamento e da un plasmide criptico.

La *Chlamydia trachomatis* è un parassita pressoché esclusivo della specie umana dove provoca una notevole varietà di quadri morbosi. Nell'uomo l'infezione da *C. trachomatis* provoca uretrite e si riscontra anche epididimite e prostatite. La diagnosi d'infezione in atto può essere fatta con certezza solamente con la dimostrazione della *Chlamydia* su colture cellulari. Vengono d'altronde utilizzate altre tecniche che ne permettono una diagnosi più rapida ed agevole:

- tecniche immuno-enzimatiche (EIA o ELISA);
- immunofluorescenza diretta;
- diagnosi mediante PCR
- test di ibridazione di acido nucleico (Sonde DNA).

Il BD ProbeTec ET è un sistema diagnostico che utilizza la tecnologia in fase omogenea SDA (Strand Displacement Amplification) come metodo di amplificazione isoterma (52° C) ed il trasferimento di energia fluorescente ET (Fluorescent Energy Transfer) come metodo di rilevazione, per testare la presenza di agenti patogeni in campioni clinici attraverso il rispettivo contenuto genetico. I tests BDProbeTec ET si basano sull'amplificazione e rilevazione

di DNA bersaglio mediante primer di amplificazione ed una sonda di rilevazione marcata con un agente fluorescente. L'amplificazione isoterma sfrutta la capacità dell'enzima di restrizione (BsoBI) di tagliare un filamento del DNA bersaglio modificato in modo tale che la DNA-polimerasi da un lato sintetizzi un nuovo filamento di DNA e dall'altro sposti il filamento di DNA sintetizzato precedentemente.

Attraverso quattro primer specifici questo metodo è in grado di amplificare un definito filamento in modo esponenziale. Il rilevamento in tempo reale è possibile per la presenza di una sonda con strutturata a forcina e sequenza specifica per il DNA target alla quale sono collegati due fluorocromi (Fluorescina e Rodamina) e dove è presente la regione per il riconoscimento specifico dell'enzima di restrizione BsoBI.

Scopo

L'utilità del nostro lavoro è stata quella di indagare un metodo per la determinazione della *Chlamydia trachomatis* nel liquido seminale, a fronte di esperienze negative da noi avute con altre metodiche usate in precedenza e al fine di meglio rispondere alle sempre più rilevanti richieste di diagnosi provenienti da chi studia le possibili cause dell'infertilità maschile.

Materiali e Metodi

I campioni di liquido seminale usati per la determinazione della *Chlamydia trachomatis* ci sono pervenuti dai medici di medicina generale e dagli specialisti andrologi, sia per verificare se esistessero delle infezioni, sia per eseguire lo spermogramma. I campioni selezionati utilizzati per la sperimentazione sono stati 95; la precauzione che abbiamo preso è stata quella di verificare la presenza di leucociti (non superiore 40 mm/c).

La tecnica usata per la determinazione della *C. trachomatis* nel liquido seminale è stato il sistema BD ProbeTec ET della Becton Dickinson.

- Micropozzetti di priming che contengono i primers e la sonda rilevatrice specifica
- Micropozzetti di amplificazione che contengono gli enzimi (polimerasi ed endonucleasi) e i nucleotidi per la reazione di amplificazione
- Le sedute di amplificazione prevedono un controllo positivo per la verifica della correttezza della procedura e un controllo negativo per la verifica della contaminazione ambientale
- Il controllo dell'amplificazione AC serve ad identificare i campioni eventualmente contenenti inibitori dell'amplificazione che, se presenti, potrebbero impedire la rilevazione del DNA di *Chlamydia trachomatis*
- Si considerano positivi i risultati se l'indice MOTA CL > o uguale a 2000, con indice MOTA AC qualsiasi (l'indice MOTA è una misurazione usata per valutare l'entità del segnale in fluorescenza)
- Si considerano negativi se l'indice MOTA CL < 2000 e l'indice MOTA AC > 1000
- Si considerano indeterminati se l'indice MOTA CL < 2000 e l'indice MOTA AC < 1000.
- Lo strumento interpreta e referta automaticamente i campioni come positivi, negativi o indeterminati.

I prova:

Centrifugare il campione a 3000 giri per 30 min., senza sottoporre il liquido seminale ad alcun trattamento

Al termine della centrifugazione eliminare tutto il surnatante, perché un eccessivo residuo di campione potrebbe causare inibizione dell'amplificazione

- Aggiungere 2 ml di diluente e vortexare per 5 sec il campione
- Procedere a lisi per riscaldamento a 114° C per 30 min.
- Lasciare raffreddare il campione a temperatura ambiente per 15 min.
- Preparare la piastra di priming e quella di amplificazione e

con il pipettatore trasferire 150 ul di campione lisato nei micropozzetti di priming

- Incubare la piastra di priming per 20 minuti a T° ambiente
- Trasferire la piastra di priming nel termoblocco di priming e contemporaneamente la piastra di amplificazione nel termoblocco di amplificazione e incubare per 10 min
- Trasferire 100 ul di campione dai micropozzetti di priming a quelli di amplificazione
- Sigillare infine la piastra di amplificazione per impedire la fuoriuscita di ampliconi e trasferirla immediatamente nello strumento di amplificazione e rilevazione simultanea ed attendere, dopo un'ora, la stampa automatica dei risultati.

II prova

- Testare i campioni entro 4 - 6 giorni dalla raccolta
- Aggiungere 4 ml di tampone fosfato (ph 6,8) 0,1 molare al liquido seminale conservato a 2-8° C
- Centrifugare il campione a 3000 giri per 30 min
- Procedere come da punto 2 della prova I, in avanti.

III prova

Il tampone fosfato, a nostro parere, serve alla stabilizzazione del liquido seminale senza alterarne le caratteristiche chimico-fisiche.

- Aggiungere uguali quantità di tampone fosfato (ph 6.8) 0,1molare al liquido seminale in esame.
- Lasciare i campioni 30 min. a temperatura ambiente, prima di procedere alla loro centrifugazione,
- Centrifugare il campione a 3000 giri per 30 min,
- Procedere come da punto 2 della prova I, in avanti.

Risultati e Conclusioni

I risultati ottenuti sui campioni testati sono i seguenti:

Tabella 1 Quadro riassuntivo dei risultati dei tests

Determin.	N°campioni	Pos. V.A.	%	Neg. V.A.	%	Indetermin. V.A.	%
I prova	95	0	0	11	11,6	84	88,4
II prova	95	0	0	42	44,2	53	55,8
III prova	95	2	2,1	92	96,8	1	1,1

La nostra ricerca è stata finalizzata alla possibilità di verificare la messa a punto della metodica sopra descritta con l'obiettivo di determinare la presenza della *Chlamydia trachomatis* nel liquido seminale.

Si è proceduto, inoltre, a verificare la massima sensibilità del metodo, introducendo il controllo positivo nel liquido seminale ed applicando la medesima procedura eseguita sul campione.

Con tale metodologia si dovrebbe stabilire la capacità del metodo di rilevare la presenza di *Chlamydia trachomatis* a cariche infettanti molto basse.

Altri elementi di riflessione che stiamo considerando concernono le ragioni per le quali la diluizione del campione con il tampone fosfato renda possibile l'amplificazione, per valutare eventuali altri tamponi che non alterino il campione e forniscano risultati validi.

In conclusione possiamo affermare che lo scopo prefissato, a nostro parere, di determinare la presenza della *Chlamydia trachomatis* nel liquido seminale ha dato risultati che soddisfano pienamente lo scopo prefissato.

Ringrazio per la collaborazione data i:

- dott.L.Latini (biologo), dott.M. Palma (biologo) e i tecnici, Sig.ra S.Silvestrini e il Sig. D.Rocchetti .
- il direttore del Laboratorio Analisi dell'A.S.L. 4 Senigallia, dott. L. Quagliarini.

Responsabile della Microbiologia A.S.L. 4 Senigallia
dott. Antonio Migali

M094

TSUKAMURELLA TYROSINOSOLVENS CAUSA DI SEPSI CORRELATA A CATETERE VASCOLARE IN UN PAZIENTE EMATOLOGICO

Ranzi M.L.*, Tortorano A.M.*, Araldi M.R.*, Laurent F.
Couble A.°, Rodriguez-Nava V.°, Robbiolo L.*, Boiron P.°

* IRCCS Ospedale Maggiore -

Università degli Studi, via F. Sforza 35, 20122 Milano;

° Laboratoire de Mycologie, Université C. Bernard, Lyon (F)

Tsukamurella tyrosinosolvens è un microrganismo aerobio, Gram positivo, debolmente alcol-acido resistente descritto per la prima volta nel 1997 (Yassin et al, Intern. J. System. Bacteriol. 1997; 47: 607-14). Recentemente è stato riportato un caso di infezione da catetere intravascolare in un paziente in emodialisi (Sheridan et al, Clin. Infect. Dis. 2003; 36: e69-e70).

Si segnala un caso di infezione sistemica in un paziente di 45 anni, affetto da linfoma non-Hodgkin e sottoposto a trapianto allogenico di midollo. In presenza di uno stato settico (febre fino a 40°C accompagnata da brivido) sono state eseguite emocolture. Actinomiceti sono stati isolati dapprima da colture di sangue prelevato da catetere di Hickman e nei giorni successivi anche da campioni di sangue prelevato da vena periferica. Il paziente, sottoposto a terapia con ciprofloxacina (500 mg x 2), si è sfebbrato solo in 8° giornata, successivamente alla rimozione del catetere vascolare. La coltura della punta del catetere, eseguita con la tecnica di Maki, ha dato esito negativo. Il ceppo isolato, inviato al Coordinatore europeo della sorveglianza epidemiologica delle infezioni da actinomiceti aerobi della Confederazione Europea di Micologia Medica (CEMM/ECMM), è stato identificato mediante sequenziamento del DNA ribosomiale 16S. La sequenza di RNA ribosomiale 16S era identica quella di *T. tyrosinosolvens* ad eccezione di 2 paia di basi.

L'impossibilità di identificare questi actinomiceti mediante i comuni metodi di laboratorio è la principale causa della carenza di informazioni relative alla frequenza di questo microrganismo come causa di sepsi. L'organizzazione della rete di sorveglianza della CEMM, coordinata da un Centro di Riferimento per gli actinomiceti, consente una precisa identificazione, mediante il ricorso a metodiche molecolari, di questi microrganismi di raro riscontro, permettendo di meglio definirne il ruolo nella patologia umana.

M095

EMOCOLTURE: PREVALENZA, ANTIBIOTICO RESISTENZA DEI MICRORGANISMI ISOLATI

Sartori R., Caola I., Cainelli M., Devitis A.,
Pedrotti C., Trenti M., Bandera M., Caciagli P.

Laboratorio di Microbiologia, Ospedale di Trento

Scopo Valutare i microrganismi che vengono più frequentemente isolati dalle emocolture nel nostro laboratorio e le relative resistenze agli antimicrobici, con lo scopo di ottenere indicazioni utili al clinico per un uso razionale degli antibiotici.

Materiali e Metodi Sono stati analizzati i risultati delle emocolture pervenute al nostro laboratorio nel 2002. Sono state incluse nello studio solo le batteriemie significative: l'isolamento di un possibile patogeno isolato da almeno due prelievi

vi diversi e di un sicuro patogeno anche da un solo prelievo nel corso dello stesso episodio infettivo, con esclusione dei duplicati. Le emocolture sono state eseguite tramite 3 prelievi da vena periferica per episodio febbrile. Il processamento dei campioni è stato eseguito col sistema Bactec 9240 (Becton Dickinson), l'identificazione e l'antibiogramma dei batteri isolati dai campioni positivi con il sistema Walk Away (Dade-Behring). La tipizzazione dei lieviti è stata eseguita con ApiCan (BioMerieux) e l'antimicogramma con Sensititre Yeastone (Trek Diagnostic System). La sensibilità è stata valutata secondo i criteri dell'NCCLS.

Risultati Delle 333 batteriemie, 139 sono state sostenute da gram negativi (41,74%), 135 da gram positivi (40,50%), 28 da miceti (8,40%), 5 da anaerobi (1,50%) e 26 erano miste (7,80%). I flaconi contaminati sono stati 225 su un totale di 17.630 (1,27%). Tra i gram negativi sono stati isolati 76 *E.coli* (22,82% sul totale), 36 organismi del gruppo KES (10,81%) e 27 altri (8,10%). Tra i gram positivi, 58 erano *S.aureus* (17,41% del totale), 19 *S.epidermidis* (5,70%), 17 *E.faecalis/faecium* (5,10%), 14 *S.pneumoniae* (4,20%), 10 streptococchi viridanti (3,00%) e 17 (5,20%) gli altri.

Per quanto riguarda la sensibilità dei microrganismi isolati dalle nostre emocolture ci pare importante rimarcare quanto segue: sensibilità del 51,69% all'ampicillina e del 78,65% alla ciprofloxacina di *E.coli*, sensibilità dell'86,96% alla ciprofloxacina di *K.pneumoniae*, sensibilità del 92,86% all'imipenem di *P.aeruginosa* per lo più multiresistente, sensibilità alla meticillina dell'80,00% di *S.aureus* e del 25,42% di *S.epidermidis*, sensibilità rispettivamente del 100,00% e del 37,50% all'ampicillina di *E.faecalis* e di *E.faecium*, sensibilità del 100,00% ai glicopeptidi degli enterococchi e degli stafilococchi, 100,00% di sensibilità alla penicillina di *S.pneumoniae*. 3 ceppi di *K.pneumoniae* erano produttori di ESBL. Dei 28 lieviti (13 *C.albicans*, 10 *C.parapsilosis* e 5 *C.glabrata*) 11 (39,28%) erano resistenti agli imidazolici.

Conclusioni E' da segnalare l'alta incidenza di *S.epidermidis* meticillino resistenti, la frequenza bassa di ceppi multiresistenti di gram negativi, costituiti per lo più da *P.aeruginosa* e la resistenza elevata dei miceti agli imidazolici.

M096

VALUTAZIONE DI UN SISTEMA CON SONDE AL DNA PER LA DETERMINAZIONE DI INFEZIONI CERVICO-VAGINALI

Baiardi C., Bellotti S., Intra E.F., Leoncino S., Serra D.

Ospedale Evangelico Internazionale,
Salita San Rocchino 31A, I 6122 Genova.

Introduzione Tra le infezioni vaginali le tre più frequenti sono: la vaginite batterica, la vaginite micotica e la vaginite da *Trichomonas vaginalis*. I metodi tradizionali di laboratorio per l'identificazione di questi microrganismi comprendono l'esame microscopico del secreto vaginale, la colorazione di Gram e la coltura batterica.

Materiali e metodi Nel periodo tra Maggio 2002 e Aprile 2003 sono state valutate 177 pazienti giunte all'osservazione clinica per disturbi vaginali: 58 pazienti ricoverate presso la divisione di Ostetricia e Ginecologia e relativo Day Hospital, 119 pazienti ambulatoriali, di età compresa tra gli 11 ed i 65 anni. Il test Affirm VPIII (Becton Dickinson) è basato sui principi di ibridazione del DNA tramite l'impiego di sonde. Il test utilizza due sonde distinte di acido nucleico a catena singola per ogni microrganismo, una prima sonda di cattura ed una seconda sonda per lo sviluppo del colore. Le sonde di cattura sono inserite su sferette poste su di un cartoncino.

Risultati Il 41% delle pazienti giunte alla nostra osservazione sono risultate positive, di queste il 51% era positivo per *Gardnerella vaginalis*, il 33% positivo per *Candida* spp., 2% positivo per *Trichomonas vaginalis* e il 14% positive per infezioni miste *Gardnerella*+*Candida* o *Trichomonas*+*Gardnerella*+*Candida*.

Conclusioni Il sistema diagnostico Affirm VPIII è sufficientemente valido per uno screening diagnostico nelle infezioni vaginali. L'elevata percentuale di positivi per *Gardnerella vaginalis* da noi riscontrata, evidenzia come le vaginosi batteriche siano una patologia frequente e da non sottovalutare, considerando anche il fatto che il germe ha una tendenza alla persistenza e alle recidive. E' necessaria quindi una stretta collaborazione tra clinico e microbiologo per poter individuare il possibile significato clinico dei germi isolati e poter programmare una terapia efficace, più difficile da instaurare nel caso di infezioni miste.

M097

UN CASO DI POLMONITE NECROTIZZANTE E SHOCK SETTICO DA *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS*.

Fabbrizi V., Sisino L.

Ospedale civile "G.Mazzini" Piazza Italia, Teramo - Settore Microbiologia.

Introduzione: I clostridi sono bastoncini gram positivi, mobili, sporigeni, anaerobi obbligati, rappresentati da più di 80 specie, di cui 20 patogene per l'uomo o comunque repertate in materiali pertinenti a malattie infettive nell'uomo. Caratteristica fondamentale di questa specie è quella di produrre esotossine, correlate con specifiche malattie o con gravi effetti patogeni. Il *Clostridium perfringens* è un anaerobio aerotollerante, con spore ovali che non deformano lo sporangio. E' ubiquitario in natura; la flora fecale del 95% degli individui adulti sani lo contiene, ma esso si incontra anche in una larga varietà di circostanze cliniche: contaminazioni di ferite chirurgiche o traumatiche, mionecrosi, ascessi cerebrali ed epatici, colecistiti gangrenose, infezioni post abortive con setticemia ed emolisi intravascolare, polmoniti necrotizzanti, empiemi, endometriti.

Caso clinico: Si riporta un caso di Polmonite necrotizzante e Shock settico occorsa in un'adolescente di 14 anni, pervenuta al reparto di Malattie Infettive del nostro ospedale, una settimana dopo un episodio di vomito e diarrea acquosa. La paziente è stata ricoverata per comparsa di febbre elevata, dispnea ingrandesciente, ittero, ipotensione. La T.A.C. torace mostra lesioni escavative polmonari multiple e versamento pleurico.

Vengono richiesti esami di routine e microbiologici su liquido pleurico, broncoaspiato, sangue, urine e feci. In terza giornata si positivizzano le emocolture per anaerobi: il germe identificato risulta essere un *Clostridium perfringens*. Restano negativi per germi patogeni la toracentesi, i broncoaspirati, le urine, le feci.

Tre giorni dopo l'isolamento del *Clostridium perfringens* dall'emocultura e la rivalutazione della terapia antibiotica, la paziente migliora soggettivamente e torna apiretica. Viene dimessa in ventesima giornata.

La T.A.C. di controllo eseguita il 7 Marzo 2003 mostra la lenta ma costante risoluzione delle caverne escavative polmonari.

Conclusioni: Possiamo considerare il caso esposto come "Polmonite necrotizzante e shock settico" sostenuta da *Clostridium perfringens*, in paziente immunocompetente senza particolari condizioni predisponenti.

M098

ULTERIORI INDAGINI SU URO-QUICK NELLO SCREENING URINARIO

Brunelli M.G., Camaggi A., Fanello M.R., Moggia G., Peroni P., Schiralli E., Fortina G.

Laboratorio di Microbiologia e Virologia-Azienda Ospedaliera "Maggiore della Carità" Novara

Abstract - Il sistema automatico dinamico Uro-Quick, per semplicità di esecuzione, rapidità di risposta, riproducibilità e affidabilità dei risultati, rappresenta un notevole perfezionamento nello screening delle batteriurie.

Delle 15.843 urinocolture effettuate nel corso del 2002 presso il nostro Laboratorio, 3.026 (19,10 %) sono risultate positive sia al sistema Uro-Quick che nei trapianti su terreni solidi impiegati come controllo. In 56 casi, invece, pari all'1,81 %, la positività si è avuta solo con il sistema Uro-Quick, e tale risultato è stato confermato in 52 casi, dopo semina su terreni di coltura per anaerobi. Di questi ultimi, in 49 si ebbe sviluppo solo su Schaedler agar in atmosfera anaerobia mentre nei rimanenti 3, la crescita è stata accertata solo dopo 48 ore e sullo stesso terreno ma in atmosfera aerobia. In 4 casi, infine, non si ebbe alcuno sviluppo anche su terreno per anaerobi, così come negativa è stata l'osservazione microscopica del sedimento del brodo.

I saggi di identificazione dei 49 stipiti di batteri anaerobi hanno messo in evidenza 12 specie diverse, il cui habitat umano è risultato essere rappresentato di norma dall'apparato genitale femminile e dall'intestino. Tra di esse hanno nettamente prevalso *Peptostreptococcus anaerobius* e *Lactobacillus acidophilus*, mentre le 3 specie a sviluppo ritardato in aerobiosi, sono risultate corrispondere al micete *Torulopsis glabrata*.

In conclusione, con questa seconda serie di indagini praticate nel corso di un anno su una vasta campionatura, è stato possibile confermare che il sistema Uro-Quick si presta validamente ad essere applicato nello screening di urinocolture. Il sistema, inoltre, come è risultato nell'1,81% della nostra casistica, è stato in grado di evidenziare, nei tempi previsti dal sistema stesso, una flora batterica anaerobia, che di norma non viene ricercata sistematicamente con i metodi tradizionali e di cui, stante il suo habitat abituale, non è agevole definirne o meno l'occasionalità nel contesto di urinocolture positive. Il sistema infine si è dimostrato in grado di agevolare il riscontro di elementi fungini, come *Torulopsis glabrata* a crescita ritardata.

I falsi positivi "veri" sono risultati quindi essere solo 4 su 15.843 campioni esaminati, pari allo 0,02 %.

M099

LE SALMONELLE A PISTOIA DAL 1992 AL 2002

Rossetti R.¹, Lencioni P.¹, Cherubini M.², Piccioli P.², Ricciardi E.²

¹U.O. Microbiologia, Spedali Riuniti, Azienda 3, Pistoia,

²U.F. Igiene degli Alimenti e Nutrizione, Azienda 3, Pistoia

Scopo

Fornire informazioni sul numero totale e sulla varietà dei serotipi di Salmonella circolanti in città e nella provincia di Pistoia, e sulla tipologia della popolazione dei soggetti positivi alla coprocultura.

Metodo

Sono stati presi in esame 11 anni d'attività del Laboratorio di Microbiologia, dal 1992 al 2002, considerando il numero totale di salmonella isolate, i singoli sierotipi, la distribuzione per età e per residenza dei soggetti positivi. Tutti i ceppi di Salmonella sono stati inviati al CEPIC dell'Università di Pisa per la tipizzazione sierologica.

Risultati

Il numero di ceppi di Salmonella isolati, circa 60 l'anno corrispondenti a 4 soggetti ogni 10.000 abitanti, pare mostrare una diminuzione nel tempo.

S. enteritidis è preponderante (47%) su *S. typhi-murium* (22%), ma con una progressiva riduzione di *S. enteritidis* e un aumento di *S. typhi-murium* nel corso degli anni.

L'isolamento di *S. typhi* risulta episodico, ed i singoli sierotipi "minori" si rilevano spesso in meno dell'1% del totale dei campioni positivi.

Suddividendo i soggetti per fasce d'età si osserva un grosso picco nei bambini piccoli, soprattutto da 0 a 2 anni, ed un aumento da 20 a 39.

S. enteritidis si dimostra preponderante rispetto alle altre specie in tutte le classi mentre in quelle d'età pediatrica il contributo di *S. typhi-murium* pare più importante che nelle successive.

Conclusioni

La tendenza alla diminuzione nel tempo del numero totale d'isolamenti, in particolare di *S. enteritidis*, e l'aumento di *S. typhi-murium* sono in linea con quanto riportato dalla letteratura nazionale ed internazionale.

Il picco di casi in età pediatrica è attribuibile al maggior contributo del contagio interumano mentre quello dai 20 ai 39 anni potrebbe essere imputabile ad una maggiore abitudine al consumo di pasti fuori casa.

La distribuzione dei casi per comune di residenza si presenta simile, a dimostrazione di una diffusione omogenea dei ceppi circolanti.

10%, su un numero di ceppi confrontabile.

Rokitamicina ha confermato ancora una volta di essere attiva "in vitro" su quasi tutti i ceppi di *S. pyogenes* superando, a differenza dei macrolidi a 14 e 15 atomi, le resistenze mediate dai geni *mef A* e di una parte di quelle mediate dai geni *erm B* o *erm TR*.

Riteniamo pertanto utile proseguire nel costante monitoraggio delle resistenze di questo microorganismo sul territorio nazionale ed inserire rokitamicina nei test di sensibilità "in vitro" di *S. pyogenes*, in modo da fornire al clinico una possibile alternativa terapeutica nelle infezioni sostenute da questo microorganismo.

M100

**RISULTATI DEL PROGETTO GISPNEUMO
RELATIVI ALLE RESISTENZE DI S. PYOGENES
NEGLI ANNI 2001 E 2002**

Gruppo di Studio Italiano Progetto Gispneumo

Nel 1999 è iniziato il monitoraggio delle resistenze dello *S. pyogenes* ai macrolidi attraverso l'utilizzo di internet, che permette sia ai microbiologi che ai clinici di poter acquisire in tempo reale informazioni sull'andamento delle resistenze di questo patogeno, principale responsabile delle faringotonsilliti batteriche, e poterle verificare nel tempo.

I risultati illustrati sono relativi al biennio 2001-2002.

Complessivamente hanno partecipato allo studio 73 Centri microbiologici nel 2001 e 70 nel 2002, distribuiti su tutto il territorio italiano. Sono stati isolati da materiale clinico 7324 ceppi di *S. pyogenes* nel 2001 e 6040 nel 2002. E' stata valutata la sensibilità dei ceppi isolati ad eritromicina, claritromicina, azitromicina, rokitamicina e clindamicina. La percentuale dei ceppi resistenti ad eritromicina, claritromicina ed azitromicina raggiungeva circa il 28%, per rokitamicina è risultata del 4,2% nel 2001 e del 4,9% nel 2002. La resistenza a clindamicina è risultata del 12,1% nel 2001 e del 10,7% nel 2002.

Le resistenze di *S. pyogenes* verso i macrolidi e clindamicina erano distribuite in modo non uniforme anche su scala loco-regionale. A titolo di esempio, mentre a Viterbo veniva segnalata una resistenza del 35% circa, in un comune della stessa provincia (Capranica) la resistenza era appena del