

022

METODO COLTURALE PER L'ISOLAMENTO DI MYCOBACTERIUM ABSCESSUS E MYCOBACTERIUM CHELONAE DALL' ESPETTORATO DI PAZIENTI CON FIBROSI CISTICA

Garlaschi M.L.², Cariani L.¹, Marchi M.¹, Costantini D.¹, Colombo C.¹, Clarizia G.², Laricchia L.¹, Russo M.¹, Torresani E.²

¹IRCCS O.M. Policlinico, MaRe - Centro di Fibrosi Cistica, Via F. Sforza 28, 20122 Milano.

²IRCCS O.M. Policlinico, MaRe - U.O. di Pat. Clinica e Microbiologia, Via F. Sforza 28, 20122 Milano.

Introduzione. I micobatteri a rapida crescita (RGM) solo occasionalmente sono causa primaria di malattia nell'uomo. Nei soggetti affetti da fibrosi cistica (FC), a causa della persistente patologia ostruttiva delle vie aeree, è maggiore il rischio di sviluppare infezioni da RGM. L'aumento di prevalenza di *Mycobacterium abscessus* e *Mycobacterium chelonae* nella popolazione con Fibrosi Cistica e la loro implicazione nella malattia cronica polmonare, ci hanno indotto ad attivare specifici programmi di sorveglianza.

Scopo. L'osservazione occasionale che gli RGM crescono sul terreno selettivo generalmente utilizzato per isolare *Burkholderia cepacia* complex (BCSA), ci ha indotti a verificare se tale terreno possa essere utilizzato per isolare *M. abscessus* e *M. chelonae* dall'espettorato di pazienti con Fibrosi Cistica.

Pazienti e Metodi. Nel periodo 01/03/2005-31/03/2006), è stato effettuato l'esame colturale di 1500 campioni di espettorato provenienti da 500 pazienti FC secondo procedure standard. Le piastre di BCSA, seminate, dopo fluidificazione, con 100 µl di campione, sono state incubate aerobicamente a 37°C per 72 ore e successivamente incubate a temperatura ambiente per altri 10 gg. Su ogni nuovo lotto di terreno è stato eseguito il CQI, mediante utilizzo di 2 ceppi ATCC: *M. abscessus* ATCC 23004 and *M. chelonae* ATCC 35752. Tutte le colonie suggestive per RGM sono state riseminate su agar sangue e identificate a livello di specie, usando una PCR specie-specifica per i Micobatteri (GenoType Mycobacterium CM; Hain, Nehren, Germany, distribuito dalla Ditta Arnika). Il test è basato su una ibridazione inversa, atta a rilevare un prodotto di amplificazione di un frammento di circa 230 pb all'interno del gene 23 S rRNA.

Risultati. Dopo 13 + 3 gg di incubazione compaiono piccole colonie, non pigmentate, lisce e/o rugose, dal tipico odore di "cantina". Tutti i 50 ceppi sospetti per RGM, isolati dall'espettorato di 27 pazienti FC (5.4%), furono geneticamente confermati dal test GenoType Mycobacterium CM. 19 pazienti erano colonizzati con *M. abscessus* e 7 con *M. chelonae*.

Conclusioni. L'osservazione che gli RGM crescono sul terreno selettivo per *B. cepacia* complex, ci permette di ricercarli in tutti i campioni con un metodo estremamente semplice e poco costoso. E' comunque auspicabile effettuare un test di biologia molecolare per identificare gli RGM a livello di specie.

023

USO DI UN TEST SALIVARE PER IDENTIFICARE SOGGETTI A RISCHIO DI CARIE

Gatti M., Almeria M., Rizzati T.G.,

Dipartimento di Scienze Odontostomatologiche, Sez. di Microbiologia, Alma Mater Studiorum, Università degli Studi di Bologna, Via S.Vitale 59, 40125 Bologna.

Introduzione. Lo sviluppo di lesioni cariose su tutte le superfici dentali coinvolge diverse specie batteriche che si succedono col variare delle condizioni dell'ambiente.

Numerosi studi hanno permesso di evidenziare una forte associazione tra carie dello smalto e presenza di *S.mutans*, mentre *S.mutans* e lattobacilli sono stati riscontrati nella carie radicolare. Scopo del presente lavoro è stato quello di individuare, tramite l'uso di un test salivari, eventuali soggetti a rischio di carie per poter prevenire e ridurre nuovi casi di malattia nella popolazione prima che le lesioni si rendano apprezzabili all'esame clinico.

Metodi. Sono stati reclutati 53 pazienti (studenti universitari) di età compresa tra 20 ed 46 anni, con una età media di 23 anni, appartenenti sia al corso di laurea in Odontoiatria e Protesi Dentaria, sia al corso di laurea in Igiene Dentale.

L'analisi era finalizzata alla ricerca della carica batterica in cfu/ml di saliva di *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus* spp, responsabili con altri fattori, dell'insorgenza della lesione cariosa.

Il protocollo di ricerca prevedeva le seguenti fasi: raccolta di materiale patologico (saliva), esame colturale, utilizzando slide del commercio CRT bacteria (Ivoclar) composto da due terreni: Mitis-salivarius-agar per la crescita di *S. mutans* e Rogosa agar per la crescita di *Lactobacillus* spp, il tutto veniva incubato a 37°C per 48 ore.

Dalle colonie crescite si sono allestiti vetrini colorati con Gram ed isolamenti su piastre di agar sangue di cavallo (Biolife) ed incubate a 37°C per 48 ore in aerobiosi per gli streptococchi, mentre per i lattobacilli gli isolamenti venivano incubati in aerobiosi ma anche in anaerobiosi utilizzando il sistema GENbag (bioMerieux) fino ad ottenere colture pure. L'identificazione di specie avveniva utilizzando i sistemi biochimici del commercio API 20A (bioMerieux) per i lattobacilli e API 20 Strep (bioMerieux) per gli streptococchi.

Risultati. Per quanto riguarda la ricerca di *S.mutans*, su 53 campioni 38 sono risultati con una carica < 10³cfu/ml, 8 con carica batterica compresa tra >10³ e < 10⁵ cfu/ml, mentre 7 con una carica > di 10⁵ cfu/ml. Per i lattobacilli i risultati sono stati: su 53 campioni studiati, 21 avevano una carica <10³ cfu/ml, 16 avevano una carica compresa tra >10³ e < 10⁵ cfu/ml, mentre 16 avevano una carica batterica alta, > 10⁵ cfu/ml. L'identificazione biochimica dei lattobacilli ha evidenziato la presenza di 3 specie diverse: *L.acidophilus* (62,5%), *L.fermentum* (25%) e *L.jensenii* (12,5%).

Conclusioni. I dati ricavati con questo test non sono da soli sufficienti a definire un individuo a rischio o meno di carie, perché essi vanno sempre correlati con altri parametri: igiene orale, alimentazione, predisposizione individuale, ecc. Ci sono, a nostro avviso, condizioni nelle quali il test è utile come indice predittivo di rischio carie soprattutto a livello pediatrico in modo da adottare misure preventive precoci.