

mente per MRSA il “gold standard” della caratterizzazione è rappresentato dalla PFGE, una tecnica complessa e di non rapida esecuzione. In questo studio abbiamo confrontato i risultati di tipizzazione con PFGE con l’analisi del polimorfismo del gene *spa*. Tale gene, codificante per la proteina A di superficie, possiede una regione polimorfica X formata da un numero variabile di *repeats* di 24 bp.

Metodi. 80 ceppi di MRSA, isolati all’Ospedale di Padova, furono identificati tradizionalmente e con API ID32 staph. I profili di antibiotico-resistenza furono tracciati utilizzando Vitek -2. Saggi di PCR furono allestiti per evidenziare il gene *mecA* e per la tipizzazione del polimorfismo del gene *spa* (seguita da determinazione delle dimensioni degli ampliconi). I profili di PFGE furono ottenuti, dopo digestione con *Sma I*, alle seguenti condizioni: 6 V/cm, 22 ore, 14°C, tempi di switch 5-35s, angolo 120°.

Risultati. Tutti i ceppi MRSA da noi esaminati erano *mecA* positivi e multiresistenti. Tra gli 11 antibiotipi osservati quello predominante (resistente a beta-lattamici, eritromicina, gentamicina, tetraciclina, chinoloni, rifampicina) comprendeva il 55% degli isolati. Dall’analisi della regione X del gene *spa* si individuavano 9 tipi di ampliconi, con dimensioni variabili da 226 a 418 bp. Il tipo con amplicone di 418 bp comprendeva il maggior numero di ceppi simili o correlati, in base all’analisi eseguita mediante PFGE.

Conclusioni. L’esame del polimorfismo degli ampliconi del gene *spa* appare utile come *screening* preliminare di ceppi di MRSA potenzialmente correlati, che devono essere poi esaminati mediante PFGE, a scopo epidemiologico.

027

PRESENZA DI *CHLAMYDOPHILA PNEUMONIAE* IN PLACCHE ATEROSCLEROTICHE MEDIANTE REAL TIME PCR

Grosso S.¹; Lucini V.¹; Pannacci M.¹; Malandrin S.²; Scaglione F.¹

¹Università degli Studi di Milano, Dipartimento di Farmacologia, Chemioterapia e Tossicologia Medica, Via Vanvitelli 32, 20129 Milano.

²Laboratorio di Microbiologia, Ospedale Fatebenefratelli e Oftalmico, 20121 Milano.

Introduzione. Recenti studi suggeriscono che diversi microrganismi gram negativi, tra cui *Chlamydomphila pneumoniae* potrebbero essere implicati nello sviluppo e nella progressione dell’aterosclerosi. In questo studio abbiamo valutato la presenza del microrganismo intracellulare, in placche aterosclerotiche provenienti da aorta umana.

Inoltre, ipotizzando un possibile coinvolgimento nell’infezione da *C. pneumoniae* delle integrine, molecole di adesione implicate nell’aterogenesi e nel reclutamento delle cellule infiammatorie, abbiamo valutato l’eventuale colocalizzazione tra questo batterio e l’integrina $\alpha_5\beta_1$.

Metodi. Placche aterosclerotiche sono ottenute da 10 individui sierologicamente positivi a *C. pneumoniae* e di età compresa tra 43 e 76 anni sottoposti ad intervento per aneurisma. La presenza del microrganismo nei campioni prelevati è stata valutata sia mediante immunofluorescenza indiretta sia mediante estrazione del DNA e Real Time PCR.

Inoltre, la localizzazione di *C. pneumoniae* e di $\alpha_5\beta_1$ nelle

placche aterosclerotiche, è stata determinata con una tripla immunofluorescenza diretta.

Risultati. L’immunofluorescenza sulle sezioni di placche aterosclerotiche analizzate ha rilevato la presenza di *C. pneumoniae* in otto dei dieci pazienti arruolati mentre due benché sierologicamente positivi non hanno evidenziato, a livello della placca, il microrganismo. I dati ottenuti con la Real time PCR hanno confermato la presenza del patogeno.

L’immunofluorescenza tripla ha dimostrato come la presenza di *C. pneumoniae*, nelle placche aterosclerotiche analizzate sia evidente in cellule infiammatorie quali macrofagi e/o monociti che sulla loro superficie esprimono l’integrina $\alpha_5\beta_1$. Inoltre, le immagini ottenute al microscopio confocale hanno rilevato un “merging” tra $\alpha_5\beta_1$ ed il microrganismo.

Conclusioni. I dati ottenuti hanno confermato la presenza di *C. pneumoniae* nelle placche aterosclerotiche, e dimostrato come il patogeno si localizzi preferenzialmente a livello delle cellule macrofagiche. Inoltre, la colocalizzazione di $\alpha_5\beta_1$ con *C. pneumoniae*, osservata nelle placche analizzate avvalorava l’ipotesi che questa integrina possa essere coinvolta nello sviluppo e nella persistenza dell’infezione da *C. pneumoniae* favorendo così l’instaurarsi di patologie croniche come l’aterosclerosi.

028

CASO DI SEPSI DA *MORAXELLA CATARRHALIS*

Gualdi P., Collini L., Schinella M.,* Mucci G.

Laboratorio Patologia Clinica;

* U.O. Pediatria, Ospedale S. Maria del Carmine

- Ple S. Maria, 6, 38068 Rovereto (TN)

Introduzione. *Moraxella catarrhalis* è un cocco gram-negativo, commensale del cavo orale che a lungo è stato ritenuto dotato di scarso potere patogeno e che ora si sta affermando quale patogeno emergente nelle infezioni dell’albero respiratorio accanto a *S.pneumoniae* e *H.influenzae*, in particolare nei soggetti con broncopatia cronica ostruttiva (BPCO).

Raramente causa infezioni invasive e nei bambini più spesso è agente eziologico di sinusiti e otite media.

Caso Clinico. Si riferisce il caso di un bambino di due anni giunto in Pronto Soccorso e successivamente trasferito presso l’Unità Operativa di Pediatria del nostro Ospedale con iperpiressia dal giorno precedente, cefalea e vomito.

In presenza di esami di laboratorio alterati; globuli bianchi 15.3×10^9 L, proteina C reattiva (PCR) 118.5 mg/L, VES 98 mm/h, e di focolaio basale alla radiografia toracica, per il sospetto clinico di infezione batterica, viene eseguito un prelievo per emocoltura.

Dopo l’esecuzione dell’emocoltura viene eseguita terapia con ceftriaxone in infusione venosa, con rapida risoluzione della sintomatologia e ripristino dei parametri di laboratorio.

Materiali e metodi. L’emocoltura si è positivizzata dopo circa 18 ore di incubazione a 37°C; al vetrino eseguito dal flacone sono stati evidenziati diplococchi Gram negativi e la ricerca di antigeni batterici è risultata negativa per *Neisseria meningitidis*. Dalle sottocolture eseguite in agar sangue e agar cioccolato, incubate in microaerofilia al 5% di CO₂ per 24 ore sono state isolate colonie piccole a “goccia di rugiada”, semitraslucide e ossidasi positiva.

La colorazione di Gram evidenziava diplococchi Gram negativi e l’identificazione biochimica, eseguita con gallerie Api-NH (bioMerieux), è risultata essere *M. catarrhalis*.

L'antibiogramma, eseguito su Muller Hinton sangue, ha dato risultati di resistenza a ciprofloxacina e sensibilità ad ampicillina, eritromicina, amoxicillina-acido clavulanico, cefaclor, ceftriaxone e trimethoprim-sulfametossazolo.

Conclusioni. Batteriemie causate da *M. catarrhalis* sono rare ma la frequenza tende ad aumentare in bambini immuno-compromessi. La letteratura riporta casi sporadici con fattori di rischio predisponenti. In tutti i casi sono presenti sintomi a carico delle vie respiratorie (otite media, sinusite e polmonite) con febbre.

Nel caso da noi presentato il soggetto, immunologicamente competente, manifestava alla Rx torace un quadro compatibile con infezione polmonare.

Presumibilmente l'agente causale era *M. catarrhalis*, isolata successivamente in campioni di sangue.

029

DNA-FINGERPRINTING DI STIPITI DI CHRYSEOBACTERIUM SPP ISOLATI DA PAZIENTI CON FIBROSI CISTICA

Lambiase A., Del Pezzo M., Raia V.*, Sepe A.*, Iula VD., Testa A., Rossano F.

Dip. di Biologia e Patologia Cellulare e Molecolare "L. Califano" e Centro di Riferimento Campano per la Fibrosi Cistica - Dip. di Pediatria; Facoltà di Medicina e Chirurgia, Università di Napoli "Federico II".

Chryseobacterium è un bacillo Gram-negativo non fermentante, normalmente riscontrabile in natura.

In pazienti affetti da Fibrosi Cistica (CF), l'isolamento di ceppi di Chryseobacterium non è ad oggi molto frequente. Nel contempo, però, è noto che in tali pazienti si verifica una espansione dell'eziologia microbica responsabile di infezioni polmonari.

Obiettivi. Lo studio è finalizzato alla determinazione di vari aspetti riguardanti isolamenti batterici di Chryseobacterium spp, ottenuti da pazienti CF regolarmente seguiti presso il Centro di Riferimento Campano. In particolare è valutato:

- 1) La frequenza di isolamenti;
- 2) Il profilo di chemiosensibilità;
- 3) Il DNA-fingerprinting.

Materiali e metodi. Nel periodo gennaio 2003-dicembre 2005, i campioni biologici respiratori di pazienti CF sono sottoposti ad indagini microscopiche, colturali, biochimiche ed a studio della chemiosensibilità. Il DNA-fingerprinting è ottenuto con tecnica RFLP sfruttando la migrazione dei frammenti in campo elettroforetico pulsato (PFGE).

Risultati. Nel periodo in studio, sono stati isolati 26 ceppi (7 *C. meningosepticum*, 14 *C. indologens* e 5 *C. gleum*) da 17 pazienti.

Tali microrganismi hanno mostrato resistenza vs tutte le cefalosporine, compresa ceftazidime, e vs i carbapenemi. Qualche ceppo mostrava sensibilità nei confronti di ciprofloxacina, levofloxacina e trimethoprim-sulfametossazolo.

L'analisi della macrorestrizione ha fatto emergere una consistente eterogeneità fra ceppi.

Conclusioni. Sebbene attualmente il ruolo prognostico di Chryseobacterium in CF non sia del tutto chiaro e nonostante l'effettivo esiguo numero di isolamenti nel nostro campione, risulta comunque indispensabile assumere un atteggiamento di allerta nei confronti di tali reperti. La notevole resistenza

riscontrata nei nostri isolati determina un aumento della difficoltà di impostazione di trattamenti chemioterapici.

Dalla tipizzazione molecolare emergono chiaramente dati che non supportano l'evidenza epidemiologica di trasmissione paziente-paziente, come invece appare con ceppi del *Burkholderia cepacia complex*. Risulta comunque chiaro che lo studio della trasmissione di questo patogeno emergente necessita di approfondimenti, soprattutto per la comprensione delle sorgenti.

030

PREVALENZA DI STREPTOCOCCUS AGALACTIAE IN DONNE IN GRAVIDANZA

Lanzillotto C.¹, Guido M.², Rollo M.C.², Pizzileo G.¹, De Donno A.²

¹U.O. di Patologia Clinica del PO "San Giuseppe da Copertino", AUSL Le/1 - via Carmiano, 73043 Copertino (LE).

²Laboratorio di Igiene, Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biologiche ed Ambientali (Di.S.Te.B.A.), Università degli Studi di Lecce, via prov.le Lecce-Monteroni, 73100 Lecce.

Introduzione. La colonizzazione da *Streptococcus agalactiae* di gruppo B (GBS) intra-parto materna è un importante fattore di rischio di malattia ad esordio precoce nei neonati. La trasmissione perinatale avviene dopo l'inizio del travaglio e lo screening culturale della vagina e del retto a gravidanza inoltrata, può identificare donne a rischio.

Scopo della ricerca è quello di determinare la frequenza di isolamento di GBS su campioni vaginali e rettali di gravide (35^a-37^a settimana).

Metodi. Nel periodo 1-04-04 ed 30-06-05 sono stati analizzati per GBS c/o l'U.O. di Patologia Clinica di Copertino n°600 tamponi vaginali e rettali. I campioni sono stati sottoposti ad esame colturale (identificazione fenotipica dei ceppi).

Per valutare l'efficacia della profilassi antibiotica praticata su gravide risultate positive all'esame colturale, sono stati effettuati tamponi auricolari, rettali e faringei sui neonati.

La ricerca di GBS è stata effettuata mediante:

- isolamento su Agar sangue;
- identificazione dell'antigene polisaccaridico (agglutinazione al latte);
- identificazione biochimica;
- antibiogramma sui ceppi isolati ed identificati.

Risultati. Su 600 tamponi analizzati, 497(83%) sono risultati negativi e 103(17%) positivi. I tamponi positivi appartenevano per il 35% a donne (20-25aa) colonizzate a livello vaginale, per il 53% a donne (25-30aa) colonizzate a livello vaginale e rettale, e per il 10% a donne (30-35aa) colonizzate a livello rettale. Durante il travaglio le gestanti portatrici, sono state sottoposte a profilassi antibiotica endovenosa, con penicillina e/o ampicillina eliminando la trasmissione verticale di GBS e la sepsi neonatale (n=103).

Conclusioni. Non abbiamo osservato nessun caso di sepsi da GBS nei neonati da madri positive, ciò conferma che la profilassi antibiotica, riduce in maniera significativa la trasmissione verticale di GBS e la sepsi neonatale. L'incidenza riscontrata nel nostro nosocomio (17%) è in linea con quanto osservato in altri Paesi Europei (10%-20%).

In conclusione i dati ottenuti sottolineano l'importanza della prevenzione a cui le gestanti devono sottoporsi.