

P031

UTILIZZO DEL SISTEMA AUTOMATIZZATO VIDAS LMO2 PER LA RICERCA DI LISTERIA MONOCYTOGENES IN CAMPIONI CLINICI

Cattai N.⁽¹⁾, Vaiani R.⁽²⁾, Locatelli W.⁽³⁾, Rossi G.⁽³⁾
Chiappa L.⁽⁴⁾, Gianfranceschi M.⁽⁵⁾

⁽¹⁾Laboratorio di Sanità Pubblica ASL Lecco,

⁽²⁾Laboratorio di Microbiologia AO Lecco,

⁽³⁾Direzione ASL Lecco, ⁽⁴⁾Direzione Sanitaria AO Lecco

⁽⁵⁾Centro Nazionale per la Qualità degli Alimenti e per i Rischi Alimentari ISS

Listeria monocytogenes, batterio trasmesso ingerendo cibi contaminati, può dare sepsi, infezioni a livello del sistema nervoso centrale e aborto settico. Recentemente è stato dimostrato che la listeriosi si manifesta anche come infezione gastrointestinale non invasiva.

Per facilitare la ricerca di *L. monocytogenes* nei casi di gastroenteriti, che esula dalla pratica routinaria, abbiamo cercato di dimostrare la possibile estensione del campo di applicazione del sistema automatizzato ELFA VIDAS LMO2 (bioMérieux), validato AFNOR per le matrici alimentari, a campioni fecali.

Sono state allestite una coltura di *L. monocytogenes* e una di *L. innocua* ad una concentrazione di 10⁸ cellule/ml, da cui sono state prodotte diluizioni fino a raggiungere concentrazioni di 30 cellule/ml finali. 5 campioni di feci sono stati contaminati con diluizioni delle due colture a concentrazioni di 30, 150, 300, 750, 1500, 3000 cellule/ml. I campioni sono stati inoculati in 9 ml di brodo half-fraser; un'aliquota di feci è stata inocolata senza contaminazione artificiale. Dopo incubazione a 30°C per 24 h si è proceduto all'analisi con il sistema immunoenzimatico e semina nel terreno cromogeno Rapid[®]L. mono (Bio-Rad), anche questo validato per le matrici alimentari. 2 campioni inoculati con la diluizione più bassa di *L. monocytogenes* sono risultati negativi con il sistema immunoenzimatico dopo 24 ore, ma positivi dopo altre 24 ore di incubazione, mentre tutti gli altri sono risultati positivi. I campioni senza inoculo e quelli inoculati con *L. innocua* sono sempre risultati negativi. L'esame colturale ha confermato questi risultati.

I risultati ottenuti indicano che il sistema automatizzato VIDAS LMO2 risulta sensibile e specifico, fornisce risposte in tempi brevi e richiede un impegno di tempo minimo da parte dell'operatore.

Questo lavoro è preliminare ad un progetto per valutare, utilizzando sia il sistema automatizzato VIDAS che il terreno cromogeno, la prevalenza di *L. monocytogenes* in patologie gastroenteriche nella provincia di Lecco, ricerca epidemiologicamente importante se si tiene conto che nel 2003 all'Ospedale di Lecco sono state ricoverati 4 casi di sepsi da *Listeria*.

P032

STUDIO DELL'ANTIBIOTICO RESISTENZA DI CEPPI DI STREPTOCOCCUS PYOGENES ISOLATI DA TAMPONE FARINGEO NEL TERRITORIO DELLA AUSL/LEI

Autori: B. Ciannamea¹, M. Megha¹, G. Miragliotta², A. Mosca²

¹Unità Operativa di Microbiologia e Virologia AUSL/LEI

²Sezione di Microbiologia, Dip. MIDIM,

Università di Bari, P.zza G. Cesare, 70124 Bari

Streptococcus pyogenes è ancora oggi responsabile della

maggior parte delle faringotonsilliti batteriche acute.

Scopo: Monitoraggio della resistenza antibiotica di ceppi di *S. pyogenes* isolati nel territorio della AUSL/LEI.

Materiali e Metodi: Nel periodo 01/2003 - 01/2004 sono pervenuti presso il Poliambulatorio della AUSL/LEI, 145 tamponi faringei per la ricerca di *S. pyogenes*. I campioni sono stati seminati su CNA agar sangue con l'aggiunta del dischetto di Bacitracina e incubati 18 h a 37°C in CO₂ 5%. Per l'identificazione è stato utilizzato il test al lattice per la ricerca del gruppo A mentre per il test di sensibilità sono stati utilizzati i pannelli API STREPT (bioMérieux).

Risultati: vedi tabella

	SENSIBILI (%)	INTERMEDI (%)	RESISTENTI (%)
CLORAMFENICOLO	12 (75)	0 (0)	4 (25)
TETRACICLINA	8 (50)	0 (0)	8 (50)
ERITROMICINA	4 (25)	0 (0)	12 (75)
CLINDAMICINA	10 (63)	0 (0)	6 (38)
VANCOMICINA	16 (100)	0 (0)	0 (0)
PENICILLINA	16 (100)	0 (0)	0 (0)
LEVOFLOXACINA	15 (94)	1 (6)	0 (0)
CEFOTAXIME	16 (100)	0 (0)	0 (0)

Conclusioni: 16/145 (11%) tamponi faringei sono stati positivi per la ricerca di *S. pyogenes*, tutti isolati da soggetti con diagnosi di faringotonsillite. La percentuale di ceppi eritromicina resistenti riscontrata nel territorio è significativamente superiore ai più recenti dati nazionali che si aggirano intorno al 30% ed induce ad una seria riflessione sul possibile ruolo giocato dalla prescrizione di macrolidi con conseguente aumento della pressione selettiva esercitata dagli stessi.

P033

ATTIVITA' " IN VITRO " DI LINEZOLID VERSO ENTEROCOCCI E PNEUMOCOCCI DI ISOLAMENTO CLINICO

Colombo R., Facchini M., Restelli A., D'Accico M., Arosio A., Moschin A., Scarazatti E.

U.O. Microbiologia Istituti Clinici di Perfezionamento, Milano

Il trattamento delle infezioni batteriche sostenute da Gram positivi è attualmente un problema emergente poiché alcuni di questi patogeni sono divenuti resistenti agli agenti antimicrobici standard. In particolare, la letteratura mondiale è ricca di segnalazioni di ceppi di enterococco resistenti ai glicopeptidi tradizionalmente usati, vancomicina e teicoplanina, di pneumococchi resistenti alla penicillina, di stafilococchi resistenti alla meticillina.

L'emergenza di batteri Gram positivi patogeni multiresistenti giustifica quindi l'attuazione di protocolli mirati a valutare l'efficacia di nuove molecole antibiotiche introdotte in commercio.

Scopo del nostro studio è stato quello di verificare l'attività "in vitro" di un antibiotico da poco commercializzato che appartiene alla classe degli oxazolidinoni, il Linezolid (Pfizer), nei confronti di enterococchi e pneumococchi isolati da campioni biologici di pazienti ricoverati (sangue, dispositivi intravascolari, liquidi peritoneali, ferite chirurgiche, broncospirati) o da campioni (urine, espettorati) di pazienti ambulatoriali afferenti alla nostra A.O. nel quadrimestre novembre '03 - febbraio '04.

Risultati. Sono stati isolati 64 ceppi di *S. pneumoniae* e 91 ceppi di enterococco così suddivisi: 76 *E. faecalis*, 14 *E. faecium* e 1 *E. casseliflavus/gallinarum*. Su tutti gli stipiti di

pneumococco sono state determinate le MIC con metodica E-test (Biolife) per Linezolid (LZ) e Penicillina, mentre per gli enterococchi sono stati saggiati Linezolid, Vancomicina e Teicoplanina. I risultati ottenuti sono riportati nelle sottostanti tabelle.

<i>S. pneumoniae</i>	S	I	R
<u>Linezolid</u>	≤ 2	-	-
N° ceppi	64		
<u>Penicillina</u>	≤ 0.06	0.12-1	>2
N° ceppi	55	8	1

Enterococchi	S	I	R
<u>Linezolid</u>	≤ 2	4	>8
N° ceppi	88	3*	
<u>Vancomicina</u>	≤ 4	8-16	>32
N° ceppi	88	3°	
<u>Teicoplanina</u>	≤ 8	16	>32
N° ceppi	91		

* 3 *E. faecalis*; ° 2 *E. faecalis*, 1 *E. casseliflavus/gallin*.

Conclusioni. I nostri risultati confermano una buona attività di LZ come farmaco di 2^a scelta sui batteri Gram positivi in caso di isolamento di ceppi resistenti.

P034

PERCENTUALI DI PREVALENZA DI ISOLAMENTO DI CEPPI GRE NELL'ANNO 2003 PRESSO LA MICROBIOLOGIA AZIENDA OSPEDALIERA UNIVERSITARIA SENESE NELL'ANNO 2003

Bartolozzi C., Colombini G.; Franceschelli S., Banchi S.; Corsi E.

Azienda Ospedaliera Universitaria Senese
Via delle Scotte Siena

I glicopeptidi sono molecole che hanno il loro principale meccanismo di azione sulla sintesi della parete batterica. Infatti formano complessi con la sequenza terminale D-ALA-D-ALA del muramyl pentapeptide del peptidoglicano in allungamento impedendone la sua polimerizzazione.

Il primo ceppo di *E. faecium* resistente alla Vancomicina fu isolato in America nel 1986; da allora il numero degli isolati GRE è in continuo aumento. In Italia un'indagine eseguita nel 1995 su alcuni ospedali riporta le seguenti percentuali di resistenza:

-) *E. faecalis* vs Vancomicina 1 - 2 %
-) *E. faecium* vs Vancomicina 0,9 - 32 %.

Sulla scorta di quanto premesso, abbiamo voluto determinare quale fosse la percentuale di prevalenza di ceppi GRE isolati dal nostro laboratorio di Microbiologia presso Azienda Ospedaliera Universitaria senese, nell'anno 2003.

Metodiche utilizzate: 1) identificazioni di specie e profili di sensibilità ottenuti utilizzando il sistema Vitek 2 della ditta Biomerieux. 2) convalida dei ceppi *Enterococcus* spp. resistenti: ripasso su Agar sangue Columbia, quindi test di screening su agar bile-esculina in presenza ed assenza di Vancomicina (6 mcg/ml), ed ETest. La ricerca ha dato i seguenti risultati:

-) il numero dei ceppi di *Enterococcus* spp. isolati nell'anno 2003 sono stati 351 di cui 311 *E. faecalis* e 50 *E. faecium*. Le loro percentuali di prevalenza di resistenza per i glicopeptidi sono risultate le seguenti:

- E. faecalis* vs Teicoplanina = 2% (MIC = 4 mg/ml per 95% degli isolati)
- E. faecalis* vs a Vancomicina = 5% (MIC = 4 mg/ml per 95% degli isolati)
- E. faecium* vs Teicoplanina = 14% (MIC = 4 mg/ml per 72 % degli isolati)
- E. faecium* vs Vancomicina = 40% (MIC = 4 mg/ml per 48 % degli isolati)

P035

VALUTAZIONE DELLA FLORA VAGINALE IN DONNE DURANTE IL TERZO TRIMESTRE DI GRAVIDANZA.

* Daghetta L., * Ferrario A., **Ricci S.

*Laboratorio Analisi - Sant'Ambrogio - Vigevano - (PV)
**Centro Medico Franzoso - Vigevano - (PV)

Numerosi studi epidemiologici hanno dimostrato che gestanti con alterato ecosistema vaginale risultano essere ad aumentato rischio per complicanze gravidiche, quali aborto e/o parto prematuro, infezioni del liquido amniotico, rottura prematura delle membrane, endometriti post-partum e sepsi neonatale.

Particolare rilevanza clinica assumono, da questo punto di vista, la vaginosi batterica e l'infezione da *Streptococcus agalactiae*.

La vaginosi batterica è la più frequente infezione vaginale nelle donne sessualmente attive che si manifesta nel 20 % delle gravide. Può essere definita come una complessa modificazione della flora batterica vaginale con interessamento prevalente di alcune specie quali *Gardnerella vaginalis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, batteri anaerobi e conseguente soppressione dei *Lactobacilli* fisiologicamente presenti. Lo *Streptococcus agalactiae* è l'agente patogeno più frequentemente isolato in caso di sepsi neonatale precoce e rappresenta la prima causa di morbilità infettiva neonatale nei Paesi Occidentali.

Scopo: obiettivo del nostro studio è stato quello di valutare la frequenza di isolamento dello *Streptococcus agalactiae* e la presenza di batteri normalmente riscontrati in concentrazioni non rilevanti nell'ecosistema vaginale.

Materiali e Metodi: l'indagine è stata condotta nel periodo compreso fra gennaio 2003 e dicembre 2003 su 215 pazienti (età media 28 anni) asintomatiche durante il terzo trimestre di gravidanza afferenti al nostro centro per effettuare un tampone vaginale. I campioni sono stati seminati su agar sangue CNA e agar Cioccolato incubati in atmosfera di CO₂ a 37°C per 24-48 ore e su Mannitolo, Mac Conkey, Sabouraud e Rogosa agar incubati in aerobiosi a 37°C per 24-48 ore.

Risultati: le analisi effettuate su 215 pazienti hanno dato esito positivo in 93 casi (43%).

La frequenza dei ceppi isolati è risultata così rappresentata: *Streptococcus agalactiae* 21,5%, *E. coli* 25,8%, *Candida albicans* 43,0%, *Enterococcus faecalis* 9,7%.

Conclusioni: date le evidenze cliniche appare chiara l'importanza di applicare adeguati protocolli per il riconoscimento precoce e il conseguente trattamento delle infezioni in gravidanza. Infatti dai dati in nostro possesso, al fine di ridurre l'incidenza di complicanze, risulta importante segnalare al clinico non solo la presenza di *Streptococcus agalactiae* bensì anche l'aumento di concentrazione batteriche normalmente presenti nella flora endogena.