

003

CAMPYLOBACTER ED ANTIBIOTICO-RESISTENZE: OSSERVAZIONI IN QUATTRO ANNI DI SORVEGLIANZA

Bonanno C.L., Cava M.C., Rosati C., Monteleone R., De Sandro M.V., Dastoli F., Spanò A.

U.O.C. Microbiologia e virologia - Ospedale " Sandro Pertini" - Roma

Introduzione. Nell'ambito della Sorveglianza delle Diarree Infettive il nostro laboratorio di Microbiologia è dal 2000 Centro di Riferimento Regionale per Campylobacter. Malgrado Campylobacter sia sicuramente responsabile di gastroenteriti soprattutto nell'età pediatrica, la ricerca, obbligatoria in quanto inserita nel Tariffario Nazionale alla voce "Coprocultura", rimane poco acquisita da molti laboratori. Bastano pochi elementi diagnostici (colorazione di Gram, prova di catalasi e ossidasi) di colonie cresciute su opportuno terreno di coltura in microaerofilia per l'identificazione, anche presso laboratori di base. La resistenza a cefalotina e trimetoprim-sulfametossazolo è di ausilio alla diagnosi. La scarsa attenzione al Campylobacter insieme a problemi legati all'invio dalle varie realtà locali è responsabile dello scarso numero di ceppi che affluiscono al nostro laboratorio, dove vengono tipizzati e antibiogrammati.

Metodi. Nel quadriennio 2001-2004 sono stati raccolti 128 ceppi da campioni fecali di pazienti prevalentemente pediatrici. Tali ceppi, previa crescita su terreno selettivo, sono stati biotipizzati secondo la tecnica di Lior (idrolisi ippurato, presenza DNAsi, produzione idrogeno solforato). La sensibilità agli antibiotici è stata testata con metodo Kirby-Bauer in agar Mueller-Hinton sangue al 5%.

Risultati. *C. jejuni* (83%) risulta prevalente rispetto a *C. coli* ed il biotipo 1 tra i *C. jejuni* (56%) ed i *C. coli* (72%) conferma la prevalenza già accertata in altri studi nazionali. *C. coli* si conferma più resistente di *C. jejuni* a varie molecole. La resistenza alla eritromicina, antibiotico d'elezione nella terapia delle gastroenteriti da Campylobacter, si attesta intorno al 6.2%; per i chinoloni (acido nalidixico-ciprofloxacina) si registra un aumento.

Conclusioni. I chinoloni, un tempo considerati utili nel trattamento e nella diagnostica delle Campylobacteriosi, non possono più essere considerati tali. Il generale incremento di resistenza sembra riconducibile all'uso ed abuso di macrolidi (come promotori di crescita) e chinoloni in campo zootecnico, agricolo e medico. Auspicabile risulta quindi sempre il saggio di sensibilità almeno verso queste molecole.

004

RESISTENZA AI FLUOROCHINOLONI IN STREPTOCOCCHI DI GRUPPO G ISOLATI DA PAZIENTI DIABETICI

Brigante G., Luzzaro F., Bettaccini A., Lombardi G., Pini B., Sokeng G., Toniolo A.Q.

Laboratorio di Microbiologia e Virologia, Università dell'Insubria e Ospedale di Circolo e Fondazione Macchi, Varese

Introduzione. La resistenza ai fluorochinoloni (FQ) è un

problema emergente negli streptococchi. Nei pazienti diabetici gli streptococchi di gruppo G (GGS) possono causare infezioni della cute e dei tessuti molli. Questi batteri sono in genere sensibili ai farmaci di uso clinico, inclusi i FQ. Si è valutata la sensibilità agli antibiotici dei GGS isolati presso il Laboratorio di Microbiologia dell'Ospedale di Varese.

Metodi. Sono stati studiati i ceppi di GGS isolati dal 2000 al 2005. L'identificazione sierologica è stata ottenuta mediante agglutinazione su latex (Strepto slide, Diesse, Siena). La sensibilità a penicillina, eritromicina, clindamicina, tetraciclina, ciprofloxacina, levofloxacina e moxifloxacina è stata determinata mediante Etest (AB Biodisk, Solna, Svezia). Le mutazioni della "Quinolone Resistance Determining Region" sono state analizzate mediante amplificazione genica e sequenziamento diretto.

Risultati. Da 202 pazienti sono stati isolati 210 ceppi di GGS. Tutti gli isolati erano sensibili alla penicillina, mentre si è riscontrata resistenza ad eritromicina (6.7%), clindamicina (4.8%) e tetraciclina (21.4%). In 33/210 (15.7%) isolati, ottenuti da ulcere cutanee di pazienti diabetici, si è osservata resistenza ad alto livello verso i FQ (ciprofloxacina, levofloxacina e moxifloxacina). La resistenza ai FQ non era associata a resistenza verso altri antibiotici. Mediante sequenziamento sono state evidenziate mutazioni dei geni *parC* (Ser79-Phe) e *gyrA* (Ser81-Phe e/o Glu85-Ala). Non si sono riscontrate mutazioni significative dei geni *gyrB* e *parE*.

Conclusioni. I risultati dello studio documentano la comparsa di resistenza ad alto livello ai FQ negli streptococchi di gruppo G. Le mutazioni riscontrate in *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* appaiono simili a quelle già descritte in *S. pneumoniae* e *S. pyogenes*. Tali risultati indicano l'opportunità di valutare la MIC dei FQ negli streptococchi di isolamento clinico, almeno in pazienti sottoposti a trattamenti prolungati con questi farmaci.

005

EFFICACIA DI FILTRI MONOUSO PER LA PREVENZIONE DELL'ESPOSIZIONE DA LEGIONELLA

Cabodi D., Bonfrate N., Tortorelli F., Franzin L.

Laboratorio "Ricerca Speciale Microbiologica", Dipartimento Diagnostica di Laboratorio, Ospedale Amedeo di Savoia, Corso Svizzera 164, 10149 Torino.

Introduzione. *Legionella* spp. può causare infezioni nosocomiali in pazienti immunocompromessi. Nonostante il trattamento dell'acqua con metodi di disinfezione sistemica, l'acqua può ancora contenere basse concentrazioni di batteri che possono tuttavia causare infezioni. Scopo del lavoro è valutare l'efficacia di filtri monouso, applicati a punti di erogazione distali dell'acqua, nell'eliminare la contaminazione da *Legionella*.

Metodi. Campioni di acqua calda (5 litri) sono stati prelevati da 15 rubinetti di reparti di 2 impianti idrici ospedalieri. Sono stati determinati: concentrazione di *Legionella*, pH, cloro libero, carica batterica totale (CBT) eterotrofica a 37°C e 25°C, Amebe a 25°C. Dopo installazione di filtri PALL Aquasafe Mini L (Nylon 0.2µ) e normale utilizzo dell'acqua per 2 settimane, sono stati prelevati campioni da 1 litro e ripetute le analisi. Il metodo usato per la ricerca culturale di *Legionella* (filtrazione con membrane 0.2µ, terreni BCYE,

BMPA, MWY a 37°C per 15 giorni) consentiva di rilevare 20 cfu/L nei campioni eseguiti prima del filtro e 1 cfu/L dopo il filtro. RT-PCR per *Legionella* è stata eseguita su alcuni campioni.

Risultati. La ricerca di *Legionella* è risultata positiva prima dell'installazione dei filtri in 11 campioni dell'Ospedale A (20-400 cfu/L *L.pneumophila* 3, temperatura media 48.9°C) e in 4 campioni dell'Ospedale B (2000-4800 cfu/L *L.spp* e *L.spp* fluorescente, temperatura media 43°C) e negativa dopo l'installazione dei filtri (Ospedale A, temperatura media 50.9°C, Ospedale B, 39.5°C). RT-PCR per *Legionella* eseguita su 5 campioni dell'Ospedale A dopo filtro ha confermato il risultato. Riduzione significativa di CBT (<1 cfu/mL) è stata osservata nei campioni prelevati dopo i filtri.

Conclusioni. I filtri monouso applicati per 2 settimane nei punti di erogazione distali dell'acqua hanno eliminato completamente *Legionella* ed hanno ridotto significativamente CBT. Questi filtri possono prevenire l'esposizione dei pazienti ad alto rischio ai patogeni presenti nell'acqua, previo uso corretto e limitatamente ai rubinetti dove vengono applicati.

006

VALUTAZIONE DELLA SENSIBILITÀ AGLI ANTIBIOTICI DI *HELICOBACTER PYLORI* RESISTENTI A TERAPIE ERADICANTI

Cabodi D., Franzin L.

Laboratorio "Ricerca Speciale Microbiologica",
Dipartimento Diagnostica di Laboratorio,
Ospedale Amedeo di Savoia, Corso Svizzera 164, 10149 Torino.

Introduzione. L'infezione da *Helicobacter pylori* (*Hp*) è probabilmente una delle infezioni croniche più diffuse. Il trattamento antibiotico per l'eradicazione viene consigliato in presenza di una sintomatologia gastrica severa, ma talvolta si mostra inefficace per la presenza di resistenze primarie o secondarie. Lo scopo del lavoro è valutare la sensibilità agli antibiotici di ceppi di *Hp* isolati da pazienti con recidive. **Metodi.** Sono state analizzate biopsie gastriche prelevate da antro e fondo di 52 pazienti (35 donne e 17 uomini, età media 54 anni, range 33-77) con una storia di uno o più fallimenti di eradicazione. I campioni prelevati sono stati omogenati e seminati su piastre di terreno Agar Sangue e Agar Dent, incubate a 37 °C in microaerofilia per almeno 4 giorni. Il test della sensibilità a claritromicina, amoxicillina, metronidazolo e tetraciclina è stato eseguito combinando la tecniche diffusione da disco ed E-test su terreno Agar Sangue secondo le linee guida.

Risultati. In 33 (63.5%) pazienti è stato possibile effettuare l'isolamento di *Hp*; nei restanti soggetti la coltura è risultata negativa per la presenza di microrganismi contaminanti a crescita rapida. Il risultato dell'antibiogramma, eseguito su 30 ceppi, ha evidenziato resistenza per amoxicillina nel 3%, per claritromicina nel 87% e per metronidazolo nel 74%. Nessun isolato si è mostrato resistente alla tetraciclina. Tutti i ceppi hanno presentato resistenza ad almeno un antibiotico e nel 60% dei casi resistenza contemporanea a claritromicina e metronidazolo, probabilmente dovuta a resistenze secondarie legate all'uso frequente di queste molecole per il trattamento della infezioni da *Hp*.

Conclusioni. I risultati mostrano: 1- elevata percentuale di

resistenza di *Hp* per le due molecole più frequentemente utilizzate nelle terapie eradicanti; 2- l'utilità dei test di sensibilità che evidenziano la possibilità di utilizzare la tetraciclina come antibiotico alternativo nel caso di fallimento di eradicazione di *Hp* con terapie standard.

007

INFEZIONE DA MYCOBACTERIUM CHELONAE: DESCRIZIONE DI UN CASO CLINICO

Caola I.*, Sicher C.***, Sartori R.*, Paternoster C.***, Caciagli P.*

* Laboratorio di Microbiologia e Virologia
- Ospedale di Trento - L.go Medaglie d'Oro 7 - 38100 Trento
** U.O. Dermatologia - Ospedale di Trento
- L.go Medaglie d'Oro 7 - 38100 Trento
*** Sezione Autonoma di Malattie Infettive
- Ospedale di Trento - Via Malta 16 - 38100 Trento

Nel maggio 2005 giungeva all'osservazione del dermatologo dell'Ospedale S.Chiara di Trento una giovane donna di 24 anni, di professione estetista, che presentava da circa un mese, una lesione alla coscia destra in placca (diametro 7 x 5 cm), formata da piccoli noduli palpabili alternati a tessuto lasso di colorito violaceo, associata a dolore modesto alla palpazione e deambulazione. Riferiva la comparsa nell'ultima settimana di due lesioni simili, più piccole, alle caviglie. Era stata trattata con antibiotici topici (gentamicina e tetraciclina) senza beneficio.

Sulle lesioni della coscia è stato effettuato un prelievo, mediante aspirazione di materiale purulento, per esame microbiologico. Un campione è stato prelevato anche per esame istologico.

L'esame microscopico con colorazione di Ziehl Neelsen ha evidenziato la presenza di numerosi batteri alcool-acido resistenti. L'amplificazione genica per la ricerca del genoma di *M.tuberculosis*, eseguita con sistema ProbetecET - BD, è risultata negativa. Le colture per micobatteri effettuate in MGIT e in Loewenstein Jensen, sia su materiale tal quale che dopo fluidificazione e decontaminazione, hanno evidenziato la crescita di numerose colonie di micobatteri, dopo 15 giorni nei terreni mantenuti a temperatura ambiente e dopo 20 giorni in quelli incubati a 37°.

Il ceppo è stato tipizzato dal Laboratorio di Microbiologia dell'Istituto Villa Marelli-Ospedale Niguarda di Milano come *Mycobacterium chelonae*.

Il saggio di sensibilità effettuato con E Test ha rilevato la sensibilità nei confronti di claritromicina, la resistenza ad amikacina e cefoxitina; ciprofloxacina ha mostrato una MIC di 2 µg /mL (intermedio).

L'istologia evidenziava flogosi acuta suppurativa, rare cellule giganti, ricerca dei micobatteri negativa.

La terapia, impostata precocemente in base al risultato dell'esame microscopico, con claritromicina per os 500 mg x 2 die, è stata prolungata per 6 mesi, tempo richiesto per la lenta graduale risoluzione del quadro clinico. Nella sede della pregressa lesione è residua una piccola area cicatriziale.

La collaborazione tra dermatologo, microbiologo ed infettivologo ha portato all'effettuazione della diagnosi in tempi rapidi ed ha permesso l'impostazione di un trattamento terapeutico corretto, condizionando positivamente l'outcome clinico.