

La Pulsed Field Gel Electrophoresis è considerata la tecnica "gold standard" per la tipizzazione dei VRE, essa, però, presenta lo svantaggio di avere lunghi tempi di esecuzione (circa una settimana).

Il sistema automatizzato Riboprinter® è stato sviluppato per la ribotipizzazione batterica ed è in grado di effettuare analisi automatiche in Southern blot. Esso fornisce risultati in una giornata lavorativa con un impegno del personale di circa un paio d'ore.

Scopo del lavoro. Lo scopo di questo lavoro è stato quello di valutare la riproducibilità del sistema RiboPrinter® per la tipizzazione automatizzata dei VRE e di confrontarne i risultati con quelli ottenuti utilizzando il sistema di tipizzazione manuale PFGE.

Materiali e metodi. A tale scopo sono stati tipizzati sia con la PFGE che con il sistema RiboPrinter® 41 ceppi di *Enterococcus faecium* vancomicina resistenti fenotipo VanA isolati da vari materiali clinici provenienti da 41 pazienti diversi, inviati presso il laboratorio di Microbiologia Clinica dell'A.S.O. S. Giovanni Battista di Torino e identificati mediante sistema Microscan ed Api Strep.

La tipizzazione in PFGE è stata eseguita mediante l'utilizzo dell'enzima *SmaI* e seguendo il protocollo descritto altrove, mentre il sistema RiboPrinter® l'enzima *EcoRI*.

L'analisi dei patterns è stata effettuata mediante il software Bionumerics 2.5 per la rivelazione dei clusters.

Risultati. La riproducibilità dei metodi è stata valutata riproducendo gli esperimenti su 10 ceppi ed entrambi i metodi hanno riconfermato i profili evidenziati dalla precedente seduta analitica.

La PFGE ha individuato 24 diversi pulsotipi aventi un numero di bande compreso tra 10 e 14. Sono stati trovati 6 clusters (con indice di similarità del 100% cioè in raggruppamenti costituiti da profili identici): 1 da 7, 1 da 6 ceppi, 1 da 4, 3 costituiti da 2 ceppi. L'indice di clusterizzazione è risultato essere 57,5%.

Il sistema RiboPrinter®, invece, ha individuato 3 profili diversi: il 114-S-1, presente in 32 ceppi, il 25-S-1 con 7 ceppi ed il 202-S-5 con 1 solo ceppo. L'indice di clusterizzazione è risultato essere 97,5%.

Confrontando i risultati ottenuti con le due metodiche, si è notato che è necessaria una differenza tra i ceppi di almeno il 20% affinché il sistema automatico possa identificarli come diversi.

Entrambi i metodi hanno identificato un ceppo come *Enterococcus gallinarum*, permettendo di correggere l'identificazione errata da parte dei metodi tradizionali.

Conclusioni. Il sistema automatizzato RiboPrinter® è inficiato da un elevato indice di clusterizzazione (97,5% vs 57,5%), ha però il vantaggio di fornire risultati in breve tempo (una giornata lavorativa vs una settimana) e con minore impegno da parte dell'operatore.

Confrontando con un proprio database il profilo ottenuto dalla tipizzazione di un ceppo, inoltre, può dare rapidamente una identificazione di genere e specie con maggiore affidabilità rispetto ai metodi di identificazione tradizionali.

BIBLIOGRAFIA.

1. Kuriyama T, et Al. (J Med Microbiol. 2003 Sep;52(Pt 9):821-7). Molecular characterization of clinical and environmental isolates of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* from a teaching hospital in Wales.
2. Price CS et Al. (J Clin Microbiol. 2002 May;40(5):1858-61). Comparison of an automated ribotyping system to restriction endonuclease analysis and pulsed-field gel electrophoresis for differentiating vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* isolates.

P018

LE LINFOADENOPATIE INFETTIVE: NOSTRA ESPERIENZA

Sanlorenzo M.*; Caldera D.*; Lasagna C.*; Bruno R.*; Pecarrere J.L.**

* A.S.L. 7 Chivasso (To)

° Equipe Sanitaria Ospedale di Sakalalina (Madagascar)

*** Istituto "Pasteur" di Antananarivo (Madagascar)

Introduzione: Le linfoadenopatie di origine infettiva rappresentano un importante problema clinico in ambiente tropicale, in considerazione anche delle difficoltà diagnostiche per mancanza di strumentazione idonea.

Vogliamo presentare la nostra esperienza in questo campo analizzando retrospettivamente i dati raccolti presso l'Ospedale di Sakalalina (Madagascar) nel periodo 1991-1992.

Materialie metodi: Nel periodo considerato presso la struttura ospedaliera sono state effettuate in 36 pazienti biopsie di linfonodi per definire meglio le patologie o i sospetti diagnostici. La sede di prelievo è stata in 21 casi a livello delle stazioni linfonodali del mesocolon trasverso, in 9 casi a livello latero-cervicale, in 6 casi a livello inguinale.

Il materiale raccolto veniva sottoposto ad esame microscopico sia a fresco sia dopo colorazione di Gram e Ziehl-Neelsen per evidenziare la eventuale presenza di microrganismi patogeni; inoltre veniva fissato con liquido di Bouin per il successivo esame istologico.

Risultati: La ricerca è stata positiva in 13 casi (36%).

In cinque pazienti l'esame istologico ha evidenziato un'adenite tubercolare follicolare e caseofollicolare: in tutti questi casi però la ricerca di BAAR è risultata sempre negativa.

Altri cinque soggetti hanno presentato una linfoadenite cronica con presenza di numerose uova di *Schistosoma mansoni* (bilarziosi linfonodale).

In due soggetti è stata riscontrata a livello dei linfonodi la presenza di *Wuchereria bancrofti*.

Infine un paziente ha presentato un quadro di micosi linfonodale con l'evidenziazione di formazioni a "grani" di origine actinomicotica.

Conclusioni: Nella nostra esperienza è stato riscontrato un elevato numero di soggetti positivi per una linfoadenite infettiva (13/36 pazienti). Vi sono difficoltà oggettive nella diagnostica, che richiede la presenza di un attrezzato laboratorio analisi e di un servizio di anatomia patologica, il che difficilmente è a disposizione in strutture situate in paesi tropicali. Ciò fa ritenere che tali patologie siano ancora sottostimate. L'elevato numero di soggetti con adenite tubercolare o con bilarziosi linfonodale correla bene con la diffusione di questi agenti patogeni in Madagascar e in particolare nella regione di Sakalalina, dove la prevalenza di *Schistosoma mansoni* supera il 75% nella popolazione.

P019

PROTOCOLLO PER LA PREVENZIONE DELL'INFEZIONE NEONATALE DA STREPTOCOCCO BETA-EMOLITICO DI GRUPPO B (SGB)

Busetti M., Antonucci G., Macorini D., Serra P.

UCO Igiene e Medicina Preventiva, Università degli Studi di Trieste, IRCCS "Burlo Garofolo", Trieste

Introduzione: l'infezione da Streptococco beta-emolitico di

gruppo B (SGB) rappresenta un'importante causa di morbosità e mortalità neonatale. In gravidanza la colonizzazione da SGB a livello vaginale e/o intestinale è frequente; la trasmissione verticale avviene prevalentemente al momento del travaglio e del parto, e può essere prevenuta mediante una profilassi antibiotica intrapartum. Dal luglio 2001 presso l'IRCCS "Burlo Garofolo" di Trieste è attivo un protocollo multidisciplinare per la prevenzione dell'infezione neonatale da SGB.

Obiettivo: valutare la prevalenza della colonizzazione da SGB alla 35a-37a settimana di gravidanza; valutare l'adesione al protocollo, in termini di frequenza del campionamento per SGB in gravidanza.

Materiali e metodi: alle donne tra la 35a e la 37a settimana di gravidanza venivano prelevati un tampone rettale ed uno vaginale. Ciascuna coppia di campioni veniva inoculata in brodo selettivo (Lim broth) e terreno selettivo (CNA). Il brodo veniva subcoltivato in una piastra di agar sangue dopo 18-24 ore. Le piastre venivano esaminate dopo 24 e 48 ore; le colonie beta-emolitiche o non emolitiche, Gram+ e catalasi negative, venivano identificate mediante test biochimici e sierologici.

Risultati: nel periodo luglio 2001-dicembre 2003 sono stati eseguiti 2712 campionamenti per SGB; sono risultate positive 454 (16,7%) coppie di campioni. L'adesione al protocollo è stata stimata comparando il numero di campionamenti annui con il numero medio di parti espletati presso il nostro Istituto (1800/anno). Nel secondo semestre 2001 sono stati effettuati 411 campionamenti, pari a circa il 46% dei parti; nel 2002 sono stati eseguiti 970 campionamenti, pari al 54% delle gravidanze; nel 2003, 1331 campionamenti, pari al 74% dei parti.

Conclusioni: la prevalenza della colonizzazione da SGB in gravidanza nella nostra area è risultata attorno al 17%. L'adesione al protocollo inizialmente è stata bassa (attorno al 50%); tra i motivi, la scarsa diffusione del protocollo a livello extra-ospedaliero (consultori, ambulatori privati). Nel corso del 2003, grazie ad una maggiore diffusione a livello territoriale, l'adesione è migliorata (74%), pur non essendo ancora a valori ottimali.

P020

DIAGNOSI DI INFEZIONE DA CHLAMYDIA TRACHOMATIS IN GIOVANI DONNE MEDIANTE METODICHE DI AMPLIFICAZIONE

Busetti M., Antonucci G., Macorini D., Serra P., Falcomer N.

UCO Igiene e Medicina Preventiva, Università degli Studi di Trieste, IRCCS "Burlo Garofolo", Trieste

Introduzione: *Chlamydia trachomatis* è uno dei più diffusi patogeni a trasmissione sessuale. La maggior parte delle infezioni sono asintomatiche ma, se non trattate, possono causare cerviciti, uretriti e malattia infiammatoria pelvica (PID) e, a lungo termine, infertilità, dolore cronico pelvico e gravidanze ectopiche. La prevalenza è particolarmente elevata nelle adolescenti e nelle giovani di età inferiore a 25 anni sessualmente attive.

Obiettivi: valutare la prevalenza dell'infezione da *Chlamydia trachomatis* in donne sintomatiche di età inferiore o uguale ai 25 anni; valutare la sintomatologia associata all'infezione.

Materiali e metodi: nel periodo marzo 2000 - dicembre 2003, alle donne di età inferiore a 25 anni afferenti agli ambulatori dell'IRCCS "Burlo Garofolo" di Trieste con sintomi associabili a infezioni genitali sono stati effettuati, oltre

agli accertamenti di routine, un tampone cervicale e/o uretrale per la ricerca di *Chlamydia trachomatis*. Il test è stato effettuato tramite due metodiche di amplificazione: LCR per la ricerca di DNA (LCx Abbott) da marzo 2000 a giugno 2003, TMA per la ricerca di RNA ribosomale (Gen-Probe, BioMérieux) da luglio a dicembre 2003.

Risultati: nell'arco di tempo considerato, sono stati testati campioni da 193 pazienti di età tra i 14 e i 25 anni; di queste 23 (11,9%) sono risultate positive.

Dei 23 soggetti con infezione accertata, 10 (43,5%) presentavano una sintomatologia aspecifica (bruciore, prurito, leucorrea, spotting); nel 26,1% dei casi la ricerca era stata effettuata per sospetta PID, nel 30,4% per altre cause (ad es. infezione del partner).

Conclusioni: pur trattandosi di una popolazione selezionata, la prevalenza dell'infezione da *Chlamydia trachomatis* è risultata piuttosto elevata, ed i sintomi spesso aspecifici. L'uso di metodiche di amplificazione che associano all'elevata sensibilità una semplicità di esecuzione e costi contenuti, potrebbe favorire l'introduzione di programmi di screening nelle adolescenti sessualmente attive asintomatiche, per prevenire le complicanze a lungo termine, come raccomandato da numerose organizzazioni internazionali (CDC: raccomandazione "A").

P021

TIPIZZAZIONE DI YERSINIA MEDIANTE ELETTROFORESI IN CAMPO PULSATO E RAPD-PCR

Cabodi D., Franzin L., Bonfrate N.

Osp. Amedeo di Savoia, Torino

Introduzione: In Italia i biosierotipi patogeni più diffusi di *Yersinia enterocolitica* (Ye) sono 4/O:3 e 2/O:9. Lo scopo del lavoro è la tipizzazione di ceppi di *Yersinia* di origine umana con elettroforesi in campo pulsato (PFGE) e RAPD-PCR a fini epidemiologici.

Metodi: 11 ceppi Ye 4/O:3, 2 Ye 2/O:9 e 7 Ye 1A/10,34, isolati nel nostro Laboratorio da pazienti sintomatici, sono stati tipizzati con PFGE e RAPD-PCR. PFGE è stata effettuata trattando il DNA batterico incluso in agar con proteinasi K (2mg/ml) e con enzimi di restrizione *NotI* e *XbaI*. La migrazione è stata effettuata su gel d'agarosio 1% con CHEF DRIII impiegando quattro condizioni di migrazione differenti. Dopo trattamento della sospensione batterica con Chelex 10%, RAPD-PCR è stata eseguita con due differenti primers. I prodotti di amplificazione sono stati visualizzati mediante elettroforesi su gel di poliacrilamide, colorato con nitrato d'argento.

Risultati: L'interpretazione dei risultati di PFGE presenta difficoltà legate al numero elevato di frammenti ottenuti. I risultati migliori sono stati osservati con l'enzima *NotI* che fornisce un bandeggio più chiaro rispetto ad *XbaI*. I profili ottenuti risultano omogenei all'interno dei tre biosierotipi, ma differenti fra loro. I risultati della RAPD-PCR confermano quelli ottenuti con la PFGE. I due metodi utilizzati evidenziano l'uguaglianza dei profili per due Ye 4/O:3, isolati da madre e figlio, e per due Ye 1A/10,34, isolati da feci e muco di un bambino.

Conclusioni: Entrambe le tecniche risultano essere strumenti importanti nella tipizzazione batterica di *Yersinia* e nel riconoscimento di eventuali correlazioni epidemiologiche. I risultati sembrano consigliare una combinazione dei due metodi al fine di ottenere una migliore e più facile interpretazione dei dati.