

P045**SENSIBILITA' AGLI ANTIBIOTICI DEI BATTERI PIÙ FREQUENTEMENTE ISOLATI NELLA REALTA' CREMONESE NEL QUINQUENNIO 1999 - 2003**

Ferrari L.

*Laboratorio di Microbiologia
Azienda Istituti Ospitalieri di Cremona*

Il continuo e spesso inadeguato uso di antibiotici impiegati nella terapia delle infezioni, ha determinato una continua riduzione della sensibilità dei batteri nei confronti dei chemioterapici.

Tale comportamento si manifesta sia in ambiente intra-, che extra-ospedaliero, determinando la necessità di utilizzare molecole sempre più "raffinate" e "costose".

Nel nostro studio è stata valutata la dinamica dei profili di sensibilità dei batteri, G+ e G-, più frequentemente isolati nel nostro territorio, nel quinquennio 1999-2003.

Materiali e Metodi

Trattandosi di un'indagine retrospettiva, i dati sono stati estratti dai database dei sistemi analitici operanti nel nostro laboratorio: Sceptor B.D. (impiegato in routine fino al dicembre 2001) e Phoenix B.D. (dal gennaio 2002 in poi), valutando l'attività di Amoxicillina/Clavulanato, Amikacina, Cefotaxime, Ceftazidime, Imipenem, Ciprofloxacina, Cootrimoxazolo Vs. E.coli, K.pneumoniae, E.cloacae, S.marcescens, Ps.aeruginosa oltre che Oxacillina, Vancomicina Vs S.aureus, S.epidermidis ed E.faecalis.

La ricerca ha interessato i ceppi batterici isolati dai pazienti degenti nel nostro ospedale (65% circa) e ceppi isolati da pazienti esterni (35% circa), afferenti ai nostri ambulatori, per un volume di 10.000 - 12.000 ceppi/anno, dal gennaio 1999 al dicembre 2003

Risultati

L'analisi dei dati ottenuti evidenzia una modesta riduzione delle sensibilità degli isolati agli antibiotici, che si attesta, nell'ultimo triennio, su valori abbastanza costanti, concordi con i dati riportati in letteratura. Da segnalare una progressiva diminuzione della meticillina resistenza per St.aureus, in ambito ospedaliero, spiegata dall'azione di controllo e di intervento di un'attiva Commissione Infezioni Ospedaliere. Per quanto riguarda i ceppi batterici extra-ospedalieri, è presente, rispetto al campione precedente, una maggiore attività di numerose delle molecole considerate, solo per alcune di queste (Fluorochinoloni), si assiste ad una riduzione della loro attività Vs alcune specie batteriche, probabilmente per il largo impiego di tali molecole nella terapia empirica, ambulatoriale, delle infezioni genito-urinarie.

Conclusioni

L'evidente pressione selettiva indotta dall'impiego massivo di antibiotici sta evidenziando nel nostro territorio, fino a qualche anno fa, miracolosamente indenne, nuovi ed insidiosi fenomeni di resistenza costantemente in aumento, quali l'insorgenza di ESBL in numerosi G- e la comparsa, sempre più frequente, di VRE, Pneumococchi Penicillino-Resistenti e Stafilococchi coagulasi-negativi Meticillino-Resistenti.

P046**CLONALITÀ DI STAFILOCOCCI OXACILLINO RESISTENTI ISOLATI DAL NASO DI PAZIENTI E PERSONALE IN 4 RIANIMAZIONI ROMANE (SEERBIO)**

Fontana C.1a, Favaro M.1a, Carletti M.2a, Carducci G.2a, Salzano M.2b, Iodice F.2b, Silvestri A.4a, Iandimarino F.4b, Gallo M.T.3a, Pelagalli L.3b, Natoli S.1b, Testore G.P.1c

*1a Università "Tor Vergata": 1a Dip. Medicina Sper. e Sc. Bioch., 1b Terapia Intensiva, 1c M.Infettive
2 OPBG-IRCCS: a Microbiologia, b Terapia Intensiva
3IRCCS-IFO: a Microbiologia, b Terapia Intensiva
4G.B.Grassi: a Microbiologia, b Terapia Intensiva*

Introduzione e Scopo del lavoro:

Le infezioni ospedaliere (IO) coinvolgono il 5-10% dei pazienti ospedalizzati con enormi costi umani e finanziari. La prevenzione delle IO è un obiettivo primario dei Piani Sanitari Nazionali sin dal 1998. Gli stafilococchi aurei e non aurei sono i più frequenti agenti delle IO, in particolare nelle terapie intensive (TI) in cui l'oxacillino-resistenza (Sta-Oxa-Res) raggiunge il 70% degli isolati. I portatori nasali di stafilococchi oxa-resistenti hanno un rischio di sviluppare un'infezione nel corso del ricovero aumentato da 2 a 10 volte. Scopo del nostro lavoro è stato quello di valutare la prevalenza di Sta-Oxa-Res in quattro unità di TI partecipanti al gruppo di lavoro sulle Eziologie E sulle Resistenze Batteriche nelle Infezioni Ospedaliere (SEERBIO).

Materiali e metodi:

Tamponi nasali sono stati prelevati da pazienti e personale due volte a distanza di 30 gg. Tutti gli Sta-Oxa-Res dopo opportuno screening su terreni selettivi (CNA, Bio Merieux e Oxacillin Screen Agar, BD) sono stati sottoposti a conferma della Meticillino-Resistenza secondo quanto previsto dall'N.C.C.L.S. E' stata valutata la correlazione genetica tra gli isolati mediante l'utilizzo della f-AFLP e successiva elaborazione di matrici di similarità degli indici dei Dice, nonché elaborazione grafica in dendrogrammi mediante UPGMA.

Risultati e conclusioni:

Il 17% degli stafilococchi è risultato portatore del gene mecA (83% isolato da personale della TI e 17% da pazienti). La f-AFLP ha evidenziato correlazione e/o clonalità genetica nel 60% degli isolati tra personale e pazienti, ciò a conferma dell'ipotesi di un trasferimento di germi dal personale sanitario verso il paziente e viceversa.

P047**UTILIZZO DELLA FLUORESCENT-AMPLIFIED FRAGMENT LENGTH POLYMORPHISM (F-AFLP) NELL'ACCERTAMENTO DELLE INFEZIONI NOSOCOMIALI**Fontana C.^{1,2}, Favaro M.¹, Pistoia E.S.¹, Minelli S.², Altieri A.², Favalli C.^{1,2}

¹Dipart. Medicina Sper e Sc. Bioch - Università Tor Vergata - Via Montepellier 1 00133 Roma

²Policlinico Tor Vergata - V.le Oxford 81- 00133 Roma.

Il controllo delle infezioni nosocomiali rappresenta una problematica di estrema attualità e particolarmente sentita nelle grandi aziende ospedaliere che hanno compreso come l'at-

tuazione di procedure atte alla prevenzione ed al controllo delle infezioni rappresenti un traguardo da raggiungere. Ciò sia per il miglioramento del management del paziente (un decorso ospedaliero senza infezioni migliora la percezione della qualità del servizio offerto al paziente) sia nell'ottica di un contenimento dei costi di una azienda, si stima che un'infezione che intercorre durante una degenza ospedaliera incide per un costo variabile compreso fra i 5000-30.000 euro. Nella gran parte dei casi le aziende si sono datate di avanzati sistemi hardware e software per il controllo delle infezioni ospedaliere, ma ciò che risulta di vitale importanza ai fini del contenimento dell'infezione, affinché questa non si trasformi in una epidemia nosocomiale, è di poter disporre di avanzati sistemi di studio della correlazione genetica degli isolati oggetto dell'infezione.

La letteratura ne fornisce diversi esempi come PFGE, la ribotipizzazione, MLE ecc, ma non tutti sono di facile applicabilità e di facile interpretazione. Soprattutto, allo stato attuale non tutte le procedure si sono dimostrate applicabili indifferentemente all'intero universo dei microrganismi che possono essere causa d'infezione.

Scopo del nostro lavoro è stato quello di valutare la possibile applicazione di una metodica relativamente giovane come la f-AFLP nell'accertamento genetico delle infezioni nosocomiali.

La metodica si è dimostrata estremamente versatile ed applicabile sia ai Gram-positivi che ai Gram-negativi con piccole modifiche procedurali. E' di facile interpretazione anche se abbisogna allo stato attuale di una maggiore sviluppo di software che aiutino nella rapida elaborazione grafica dei risultati ottenuti. Consente grazie al notevole supporto tecnologico di cui è fornita di fornire risultati in un tempo massimo di 24 ore. Quest'ultimo aspetto rappresenta uno dei maggiori vantaggi applicativi se si tiene conto di come il tempo giochi un ruolo fondamentale nel contenimento delle infezioni.

P048

TIPIZZAZIONE MOLECOLARE DI CEPPI DI SALMONELLA, YERSINIA E CAMPYLOBACTER

Franzin L., Cabodi D., Bonfrate N.

Ospedale Amedeo di Savoia - Torino

Obiettivo. La genotipizzazione dei ceppi batterici è utile negli studi epidemiologici. Scopo del lavoro è la tipizzazione molecolare di ceppi di *Salmonella*, *Yersinia* e *Campylobacter* isolati da pazienti HIV+.

Metodi. Sono stati esaminati 68 soggetti HIV+ (35 AIDS; media CD₄: 197 cellule x 10⁶/L, range: 3-755) con sintomatologia gastroenterica. Sono stati isolati: *Salmonella* nel 7,3% dei pazienti, *Yersinia* nel 10,3% e *Campylobacter* nel 7,3%. I ceppi sono stati tipizzati con RAPD-PCR; l'amplificato è stato sottoposto ad elettroforesi su gel d'agarosio al 2% e su gel di poliacrilamide. Sono stati studiati 10 ceppi *Salmonella*, 13 *Yersinia* (8 *Y. enterocolitica* 1A, 1 *Y. intermedia* e 4 *Y. frederiksenii*) e 19 *Campylobacter* (*C. jejuni* subsp *jejuni* biotipo I e II di Lior, *C. lari* e *C. spp*). La ricerca dei plasmidi è stata eseguita con metodo Portnoy e con metodo Birboim e Doly.

Risultati. Gli isolati di *Salmonella* mostravano profili elettroforetici identici in due soggetti. I ceppi presentavano almeno un plasmide di ~100 MDal; in un paziente è stata anche osservata la presenza di ceppi con plasmidi di 70 e 1,5 MDal e in un altro di 1,2 MDal. I profili RAPD-PCR di *Yersinia* appartenenti allo stesso paziente sono risultati identici, tranne per *Y. enterocolitica* 1A con plasmidi di 3,9 MDal

e di 2, 9, 51, 70 MDal. I tracciati elettroforetici RAPD-PCR di *Y. frederiksenii* sono risultati simili. I ceppi di *Campylobacter* hanno presentato profili identici nello stesso paziente e diversi rispetto a quelli degli altri. *C. lari* presentava plasmide di ~20 MDal. I ceppi *C. jejuni*, isolati da 3 campioni successivi di un paziente sono risultati identici.

Conclusioni. La tipizzazione dei ceppi con i metodi molecolari ha permesso di evidenziare un comune profilo elettroforetico per isolati diversi, consentendo di ottenere utili informazioni sulla circolazione e sulla modalità di diffusione degli stipti studiati.

P049

PSEUDOMONAS AERUGINOSA: PREVALENZA 1999-2003 NELLE TERAPIE INTENSIVE DI QUATTRO OSPEDALI ROMANI (SEERBIO)

¹Gallo M.T. ²Carletti M., ³Fontana C., ⁴Meledandri M., ⁵Testore G.P.

¹I.F.O. San Gallicano IRCCS

²OBPG-IRCCS Lab. Analisi Palidoro

³Uni. Tor Vergata-Microbiologia

⁴ACO S.F.Neri UOC Microbiologia

Introduzione e scopo del lavoro:

Pseudomonas aeruginosa è responsabile di numerose infezioni principalmente in pazienti immunocompromessi. Questo patogeno è naturalmente resistente a molti antibiotici ed ha una grande capacità di acquisire nuovi meccanismi di resistenza. Per questo motivo è richiesta una analisi continua della sensibilità agli antibiotici. Scopo del lavoro è stato quello di valutare la sensibilità di antimicrobici su ceppi di *Pseudomonas aeruginosa* isolati da campioni clinici provenienti dalle Terapie Intensive di quattro ospedali romani nel periodo 1999-2003.

Materiali e metodi:

Le identificazioni e gli antibiogrammi sono stati eseguiti mediante sistemi automatici (Vitek, Bio-Merieux e Phoenix, BD) e riuniti in un unico database. Tutti i campioni sono stati saggiati con varie classi di antibiotici: chinoloni, aminoglicosidi, carbapenemi, penicilline e cefalosporine per un totale di 12 antibiotici.

Risultati:

Lo *Pseudomonas* ha mostrato una elevata resistenza nei confronti del Ceftriaxone (95,26%), dell'Imipenem (49,19%) e del Meropenem (41%); una attività sovrapponibile tra Levofloxacin (42%) e Ciprofloxacina (40%). L'antibiotico con la piu' alta attività in vitro rilevata nell'anno 2003 è la piperacillina (73%).

Conclusioni Sembra probabile che la maggior parte di questa multiresistenza rifletta l'accumulo di mutazioni multiple, anche se questo deve essere confermato da studi di genetica molecolare.

La selezione di mutanti resistenti è associata alla terapia antibiotica utilizzata per lo *Pseudomonas*, al dosaggio ed al sito di infezione. E' quindi importante valutare la sensibilità del microrganismo isolato per ridurre l'uso inappropriato di antibiotici.

BIBLIOGRAFIA

1. Cobo Martinez F., Bermudez Ruiz P., Manchado Manas P.: Situación actual de la resistencia de *Pseudomonas aeruginosa* a los antimicrobianos. Rev.Esp. Quimoterap, Dic.2003; vol.16 (n.4):450-452