

tore di emolisi su agar sangue. Precedentemente inserito nel genere *Corynebacterium*, è stato successivamente riclassificato in un nuovo genere; mostra tuttavia alcune somiglianze con gli actinomiceti e batteri "corineformi". È solitamente isolato da pazienti con faringiti ed infezioni cutanee, raramente causa sepsi, infezioni del sistema nervoso centrale ed endocarditi.

**Caso clinico** Si riferisce il caso di una donna di 55 anni che a maggio 2003, per un Ca del retto, è stata sottoposta a resezione anteriore bassa del retto, isterectomia totale, annessiectomia sinistra e metastasectomia epatica sinistra. Portatrice di ano pre-ter e di catetere vescicale fino a ottobre 2003. Inizia subito dopo l'intervento cicli di chemioterapia che continua tuttora. A novembre la paziente lamenta perdite vaginali cremose giallastre e maleodoranti con fish odor curate con metronidazolo. Scomparsa del fish odor ma permanenza della leucorrea cremosa. Vengono eseguiti pertanto esame colturale del fluor vaginale, ricerca micoplasmi urogenitali e Chlamydia. Dopo l'esito viene instaurata terapia con Bactrim che non sortisce effetto e successivamente ripetuto il tampone vaginale. Alla risposta del secondo campione viene iniziata terapia con clindamicina.

**Materiali e metodi** Entrambi i campioni di essudato vaginale, prelevati a distanza di 10 giorni, sono stati seminati su piastre di agar Columbia CNA incubate in anaerobiosi e su piastre con terreni selettivi per miceti, stafilococchi, Enterobacteriaceae ed enterococchi. Dopo 24 ore di incubazione a 37°C sono state isolate su agar sangue piccole colonie emolitiche, catalasi negative e negative alla tipizzazione per streptococchi  $\beta$ -emolitici. La colorazione di Gram ha evidenziato bacilli pleiomorfi Gram positivi e l'identificazione eseguita con gallerie Api Coryne (bioMerieux) è stata di *Arcanobacterium haemolyticum*. L'antibiogramma eseguito su Mueller Hinton agar + sangue di montone con E-test ha dato risultati di sensibilità a cefotaxime, clindamicina, vancomicina e resistenza al trimetoprim-sulfametoxazolo.

**Conclusioni** Sebbene *Arcanobacterium haemolyticum* venga prevalentemente isolato da pazienti con faringiti ed infezioni cutanee, nel caso da noi esposto, visto l'isolamento in più campioni in fluor vaginale, è ipotizzabile un suo ruolo come patogeno opportunisto in pazienti oncologici, come del resto già riportato in letteratura.

## P060

### UN SAGGIO DI "REAL-TIME PCR (TaqMan)" PER LA DIAGNOSI DI LABORATORIO DI LEPTOSPIROSI

Calderaro A., Incaprera, M., Piccolo, G., Arcangeletti M.C., Medici M.C., Dettori G., Chezzi C.

Dipartimento di Patologia e Medicina di Laboratorio, Sezione di Microbiologia, Università degli Studi di Parma, viale Gramsci 14, 43100 Parma.

Allo scopo di superare gli svantaggi dei metodi convenzionali di riferimento per la diagnosi di laboratorio di leptospirosi (esame colturale e saggio di microagglutinazione) è stato introdotto nel nostro laboratorio un saggio di nested-PCR che si è rivelato sensibile e specifico per *Leptospira* spp. ma non in grado di differenziare leptospire patogene da quelle saprofiti. A questo scopo, un recente saggio "Real-time PCR" per la rivelazione delle sole leptospire patogene è stato sottoposto a valutazione nel nostro laboratorio. La sua specificità è stata valutata su colture pure di leptospire saprofiti e di leptospire patogene. La sensibilità è stata valutata su campioni simulati di sangue addizionati di *L. interrogans*

*Australis bratislava* Riccio-2. Le sospensioni di leptospire così ottenute sono state sottoposte a diluizioni seriali e analizzate mediante saggio "Real-time PCR" che prevede l'amplificazione di una sequenza interna al 16S rDNA e rivelazione della fluorescenza condotte in "ABI Prism 7000 sequence detector" (Applied Biosystem).

Nel nostro laboratorio, il saggio "Real-time PCR" è stato ottimizzato attraverso la definizione delle condizioni sperimentali (concentrazione dei "primers" e della sonda, e il numero di cicli di PCR) e ha mostrato una buona sensibilità per *L. interrogans* (CT 27,82) (Std Dev. CT 0,139). Rispetto al saggio nested-PCR, questo procedimento realizzato in un unico tubo garantisce una maggiore sicurezza contro eventuali contaminazioni, ha un tempo di esecuzione rapido (2 ore rispetto a 7-8 ore per il saggio nested-PCR), è specifico per le specie patogene e, attualmente, sufficientemente sensibile e semiautomatizzato.

## P061

### EPIDEMIA DI PSEUDOMONAS AERUGINOSA MULTIRESISTENTI, PRODUTTORI DI METALLO B-LATTAMASI IMP-13, IN UNA UNITÀ DI TERAPIA INTENSIVA DELL'IRCCS "CASA SOLLIEVO DELLA SOFFERENZA" DI SAN GIOVANNI ROTONDO (FG)

M. Labonia<sup>1</sup>, M. Li Bergoli<sup>1</sup>, R. Migliavacca<sup>2</sup>, C. Colinon, J.-D. Docquier<sup>3</sup>, M. Spalla<sup>4</sup>, E. Nucleo<sup>2</sup>, G. M. Rossolini<sup>3</sup>, L. Pagani<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Lab. di Microbiologia - IRCCS "Casa Sollievo della Sofferenza S. Giovanni Rotondo, (FG),

<sup>2</sup>Dipartimento di Microbiologia, Università di Pavia,

<sup>3</sup>Dipartimento di Biologia Molecolare, Università di Siena,

<sup>4</sup>Lab. di Microbiologia - IRCCS S. Matteo Pavia.

**Scopo:** In questo lavoro si descrive un epidemia dovuta a *P. aeruginosa* produttrice di una MBL di tipo IMP (IMP-13) in una UTI dell'IRCCS "Casa Sollievo della Sofferenza di San Giovanni Rotondo (FG).

**Metodi:** 27 isolati di *P. aeruginosa*, non duplicati, resistenti ai carbapenemi, furono raccolti da 27 pazienti ricoverati in una UTI dell'Ospedale di S. Giovanni Rotondo (Italia meridionale) nel periodo Ottobre 2002 - Giugno 2003. La maggior parte degli isolati (25/27) proveniva dell'apparato respiratorio inferiore. I test di sensibilità *in vitro* furono eseguiti con il metodo delle microdiluizioni, come raccomandato dal NCCLS. L'E-test e il metodo di microdiluizione in brodo (EPI test) furono usati per la rilevazione fenotipica dei produttori di MBL. Per identificare i determinanti delle MBL furono eseguiti esperimenti di PCR e di sequenziamento. Per valutare le relazioni clonali fra gli isolati clinici imipenem-resistenti, fu eseguita la Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE), usando l'enzima di restrizione *SpeI*.

**Risultati:** L'EPI test dimostrava che 6 isolati di *P. aeruginosa* resistenti ai carbapenemi producevano un'attività MBL, mentre l'E-test non identificava nessuno di questi isolati. In tutti i casi, la MBL fu identificata come IMP-13 mediante metodi molecolari. I produttori di IMP-13 erano resistenti all'imipenem (MIC > 32 µg/ml) e al meropenem (MIC > 16 µg/ml), ma alcuni conservavano la sensibilità alla piperacillina/tazobactam (3/6) e una sensibilità intermedia all'aztreonam (5/6). L'analisi con PFGE mostrava che i ceppi erano correlati clonalmente suggerendo una diffusione clonale nell'ambito del Reparto. Tutti gli isolati erano resistenti all'imipenem, MIC > 16, ma non al meropenem, con MIC che variavano da 2 a > 16, e sensibili alla piperacillina e pipe-