

P066**ENTEROCOCCHI VANCOMICINA RESISTENTI ISOLATI NELL'UOMO E IN ALIMENTI DI ORIGINE ANIMALE IN TOSCANA**

Mariottini A., Pedonese F.*, Sartini L.*, Pecile P.

Laboratorio di Microbiologia AO Careggi, Firenze

*Dipartimento di Patologia Animale,

Proflessi ed Igiene degli Alimenti - Università di Pisa

Gli enterococchi sono largamente diffusi in natura e possono essere definiti microrganismi ubiquitari in quanto si trovano come comuni residenti del tratto gastrointestinale dell'uomo, di altri mammiferi, uccelli, rettili e insetti, ma anche in piante, rifiuti ed acque. In patologia umana stanno acquisendo sempre maggiore importanza a causa della loro multiresistenza agli antibiotici che può includere anche la resistenza ai glicopeptidi, al punto che l'isolamento di enterococchi vancomicina resistenti (VRE) è diventato sempre più frequente. Dai dati relativi ai campioni pervenuti al Laboratorio di Microbiologia e Virologia della AO Careggi di Firenze nell'anno 2003, su un totale di 1253 *Enterococcus faecalis* e di 201 *Enterococcus faecium*, isolati da pazienti ricoverati, i resistenti a vancomicina sono risultati rispettivamente il 3% ed il 48%. Percentuali di resistenza simili si sono riscontrate nei pazienti ambulatoriali (il 2% degli *E. faecalis* ed il 50% degli *E. faecium* isolati). Mentre un trasferimento di VRE dall'ambito nosocomiale a quello territoriale è già stato descritto, necessita di essere ulteriormente esplorata la possibilità di una colonizzazione dell'individuo non ospedalizzato imputabile alla fonte alimentare, anche se allo stato attuale non è mai stato dimostrato alcun caso di infezione da VRE a seguito di ingestione di un alimento contaminato. Infatti varie ricerche hanno evidenziato la presenza di VRE in alimenti di origine animale ed inoltre l'osservazione che alcuni isolati di origine umana siano genotipicamente non distinguibili da isolati di matrice non umana sembra supportare l'ipotesi che VRE possano trasmettersi dall'animale all'uomo tramite la catena alimentare. Allo scopo di verificare la circolazione di VRE nei prodotti alimentari di origine animale nella nostra regione sono stati esaminati 103 campioni alimentari di cui 57 carni e 46 lattiero-caseari acquistati presso supermercati ed ipermercati toscani nel periodo compreso tra luglio e dicembre 2003. Dall'analisi effettuata, mentre gli enterococchi sono risultati presenti in circa l'80% dei campioni, solo 3 campioni carni (2 di provenienza avicola ed 1 prodotto di salumeria) sono risultati positivi per *E. faecium* vancomicina resistenti. In tutti i ceppi isolati è stato possibile evidenziare con metodica PCR la presenza del gene di resistenza *vanA*.

Il riscontro di positività per VRE negli alimenti in esame evidenzia l'importanza di continuare il monitoraggio di tali possibili fonti di contaminazione, come del resto è testimoniato dai numerosi programmi di ricerca che in diversi paesi europei e negli USA indagano sulla trasmissione di VRE dagli alimenti all'uomo tramite la catena alimentare.

P067**GLICOCALICE E ANTIBIOTICO-RESISTENZA: STUDIO SU PAZIENTI PORTATORI DI DISPOSITIVI PROTESICI**

Catanea M.L., Cannistrà G., Rondinelli V., Saraceno R., Colosimo M., Morrone P., De Fazio G., Masciari R.

Virologia e Microbiologia Azienda Ospedaliera Pugliese - Ciacio Catanzaro.

Il glicocalice (o slime) è localizzato sulla superficie esterna di batteri Gram positivi e negativi.

Recenti studi dimostrano che batteri occasionalmente produttori di slime sono responsabili dello sviluppo di gravi infezioni in pazienti portatori di dispositivi protesici (cateteri, pacemaker, valvole, etc). L'adesione di tali batteri a tali dispositivi rende l'infezione più difficile da eradicare con terapia antibiotica e quindi prolunga il decorso clinico.

Scopo: in tale studio si è valutata l'associazione tra la positività allo slime test e l'incremento di antibiotico-resistenza in ceppi batterici di stafilococchi.

Metodi: colonie di stafilococchi provenienti da emocolture positive sono state poste in brodocoltura ed incubate staticamente per 24 ore a 37°C in terreno liquido TSB (Tryptone soya broth). Quindi, la brodocoltura è stata aspirata ed i batteri sono stati incubati con 10 ml di fucsina per 30 minuti e, dopo l'aspirazione del colorante, è stata effettuata la lettura dello slime. Contemporaneamente, lo stesso ceppo batterico è stato posto in piastre di coltura per l'identificazione e la valutazione della sensibilità antibiotica.

Risultati: Da Gennaio 2003 a Gennaio 2004 sono state analizzate 1396 emocolture, di cui 148 (10,6%) sono risultate positive per stafilococchi. I ceppi di stafilococchi più frequenti sono stati *S. epidermidis* (97: 65,5%) e *S. aureus* (18: 12,1%). La positività allo slime test è stata riscontrata più frequentemente in pazienti portatori di cateteri venosi centrali (CVC). Il confronto con l'antibiogramma ha dimostrato che solo gli Stafilococchi slime test positivi (+++) si associavano ad un incremento statisticamente significativo delle resistenze di tali batteri all'antibiogramma ($P < 0.01$), specie a penicilline, cefalosporine e fluorochinoloni. Gli Stafilococchi Slime test positivi (+ e ++) non mostravano invece elevati livelli di antibiotico-resistenza.

Conclusioni: da questi dati preliminari si evince che lo slime test rappresenta un utile supporto diagnostico per la valutazione dell'antibiotico-resistenza in pazienti portatori di dispositivi protesici con emocoltura positiva. Questo test, di bassissimo costo e di facile esecuzione, è un esempio di quanto sia importante per il clinico la stretta collaborazione con il microbiologo.

P068**VALUTAZIONE PRELIMINARE DEL SISTEMA CHORUS PER L'ANALISI DELLE IgM ANTI-TOXOPLASMA GONDII.**

Mazzarelli G.*; Parri F.*; Petreni S.‡; Soldatini C.‡; Tognini M.‡

*Laboratorio di Sieroinmunologia A.O.U.C., Careggi, viale Pieraccini 17 Firenze.

‡DIESE Diagnostica Senese SpA, via delle rose 10, Monteriggioni (SI)

La determinazione degli anticorpi di classe IgM è un test molto importante nella valutazione dello stato immune di donne in

gravidanza. Tra i kit disponibili in commercio, il kit VIDAS Toxo IgM (BioMérieux) è sicuramente uno tra i più utilizzati grazie agli ottimi livelli di specificità e sensibilità del test. Recentemente, DIESSE Diagnostica Senese SpA ha sviluppato il sistema Chorus per l'esecuzione in automazione di test ELISA mediante l'uso di dispositivi pronti all'uso a singolo test. Nel presente lavoro abbiamo valutato preliminarmente il sistema Chorus per il dosaggio di anticorpi di classe IgM anti-*Toxoplasma*, confrontandolo con il sistema VIDAS, in uso di routine presso il nostro laboratorio.

Sono stati analizzati in totale 232 campioni, in parte da routine ed in parte da sieroteca, al fine di valutare la concordanza del test Chorus *Toxoplasma* IgM con il test VIDAS Toxo IgM.

Su 232 campioni, 221 hanno dato risultato concordante tra i due sistemi diagnostici (95,3%); in particolare, 187 campioni risultavano concordemente negativi, 31 risultavano concordemente positivi e 3 risultavano dubbi con entrambi i metodi. Analizzando più in dettaglio i campioni discordanti, si notava che in 5 casi su 11 si trattava di campioni risultati positivi nel sistema Chorus e dubbi nel sistema VIDAS; inoltre, gli indici di positività di tali campioni risultavano poco al di sopra di 1.2 (limite superiore della zona grigia, per il sistema Chorus). In 3 casi su 11, il risultato Chorus era dubbio (indice 0.9) e negativo per VIDAS. Per quel che riguarda i restanti 3 campioni discordanti, 2 risultavano dubbi con il Chorus e debolmente positivi con il VIDAS; un campione risultava negativo (indice 0.7) con il Chorus e dubbio con il VIDAS (0.55, limite inferiore della zona grigia). In conclusione, lo strumento Chorus fornisce dei risultati in buon accordo con quelli forniti dallo strumento VIDAS, con il quale condivide la ridotta manualità propria dei sistemi basati su dispositivi pronti all'uso a singolo test.

zione è stata utilizzata con il programma FINDPATTERNS, del pacchetto Wisconsin GCG, per la scansione delle sequenze del *B. anthracis*, dei ceppi *KrugerB*, *WesternNA*, *Florida* ed *Ames*.

Nei campioni analizzati, le grandezze "apparenti" dei frammenti espressi in bp, erano spesso discordanti dalle grandezze "reali" calcolate mediante analisi delle sequenze. Il confronto delle rappresentazioni ad albero dei profili genetici ottenuti o con le grandezze apparenti dei frammenti o con le *TRN*, davano lo stesso risultato. La caratterizzazione del campione con il primo metodo necessita di campioni di riferimento a genotipo noto. Con il secondo metodo, il profilo genetico dei campioni in esame può essere confrontato con quelli dedotti *in silico* utilizzando sequenze presenti in banche dati e quindi si presta meglio a studi epidemiologici ed evolutivi.

P070

SENSIBILITA' DI CEPPI DI *ESCHERICHIA COLI* A PRODOTTI NATURALI

Fabio A.* Forte E**, Fabio G.***, Martino A.**,
Nanni H.****

* Arcispedale S. Maria Nuova, Reggio Emilia

** Dipartimento di Scienze Igienistiche, Microbiologiche
Università di Modena e Reggio Emilia.

*** Dipartimento di Medicina di Laboratorio,
Università di Modena e Reggio Emilia

**** Agenzia Regionale Prevenzione Ambiente (ARPA) Rimini

Nell'ambito della specie *Escherichia coli* il gruppo degli enteroemorragici (EHEC) contiene i ceppi produttori di verocitotossine detti verocitotossici (VTEC) causa di infezioni alimentari in diverse parti del mondo con un quadro nosologico che include diarrea, spesso ematica, colite emorragica (HC) e sindrome emolitico-uremica (HUS). Alcuni ceppi producono solo VT₁ o VT₂ o ambedue. L'habitat principale è costituito dall'intestino dei bovini; l'infezione umana è causata prevalentemente dal consumo di alimenti carni. Il sierogruppo O157 è associato soprattutto ad episodi epidemici; O111, O26 sono sempre più frequentemente causa di casi sporadici. Ci è sembrato quindi opportuno saggiare su i predetti microrganismi l'effetto di prodotti naturali quali spezie, derivati e campioni di vino utilizzati nella preparazione di cibi carni.

L'attività antibatterica è stata determinata su tre ceppi di *Escherichia coli* VT positivi (O157:H7, O111, O26) di isolamento clinico*. Spezie essicate tritate (cannella, chiodi di garofano, origano, rosmarino, salvia, timo) al 3% sono state aggiunte separatamente a terreno liquido contenente 0,5 Mc Farland di ciascun ceppo, incubato e seminato in piastra dopo 1, 4 e 7 giorni. I corrispondenti oli sono stati saggiati a concentrazione commerciale secondo Kirby Bauer. Aliquote di 0,5 Mc Farland sono state aggiunte al vino. Le sospensioni ottenute, mantenute a temperatura ambiente, venivano seminate in piastre, poi incubate, dopo 10, 20, 30, 60, 120 minuti.

Non si sono riscontrate differenze tra gli stipiti saggiati.

Tra le spezie è risultata particolarmente attiva la cannella seguita dalla salvia, soprattutto il primo giorno, con una netta diminuzione dell'attività nel tempo; tra i derivati cannella, origano e timo hanno mostrato notevoli capacità inibitorie mentre l'olio di salvia è risultato inefficace. Il contatto con il vino ha eliminato *E. coli* in 60 minuti con un forte abbassamento della carica dopo 10'. I controlli effettuati mostrano

P069

TASSONOMIA MOLECOLARE DI *B. ANTHRACIS* MEDIANTE ANALISI VNTR.

Muscillo¹ M.; La Rosa¹ G.; Sali¹ M.; De Carolis¹ E.;
Adone² R.; Ciuchini² F.; Fasanella³ A.

¹Istituto Superiore di Sanità, Dipartimento Ambiente e
Prevenzione Primaria, Viale Regina Elena 299, 00161 Roma.

²Istituto Superiore di Sanità, Dipartimento Sanità Alimentare ed
Animale, Viale Regina Elena 299, 00161 Roma.

³Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Puglia e Basilicata,
Foggia.

La classificazione genetica di *Bacillus anthracis* è importante per una corretta definizione del rischio nel caso di rilevamenti occasionali in campioni ambientali o in sospette contaminazioni di natura dolosa. L'approccio biologico richiede spesso un tempo incompatibile con le esigenze sanitarie e di pubblica sicurezza. L'approccio tradizionalmente usato è l'analisi multilocus delle sequenze ripetute in tandem detta VNTR. Tale metodica si basa sull'analisi delle grandezze dei prodotti PCR di 6 loci cromosomiali e 2 plasmidici. Questa metodica è molto rapida ma è suscettibile di interpretazioni soggettive in quanto strettamente dipendente dalle caratteristiche strumentali e dal software utilizzato per l'interpolazione dei pesi molecolari.

In questo lavoro sono stati sequenziati gli 8 loci di 4 ceppi virulenti, e di due ceppi vaccinali (Carbosap, Pasteur II) di *B. anthracis*. Ciò ha permesso, per ogni locus esaminato, di mettere a punto una configurazione testuale basata sulla sequenza del *repeat*, sul numero minimo e massimo di ripetizioni e sulle loro zone fiancheggianti. Ciascuna configura-