

- Il livello di resistenza ad almeno un farmaco era del 22,9% durante il periodo preso in esame.  
La resistenza alla Streptomicina era la più rappresentata tra le monoresistenze (sia nei nuovi casi sia nelle recidive).
- Non si è osservata alcuna monoresistenza per l'Etambutolo.
- Casi di resistenza a più farmaci (NO-MDR) varia di poco se si considerano i nuovi casi (3,7%) e le recidive di malattia tubercolare (3,4%).
- La MDR era complessivamente del 4,4% ma limitata nelle prime diagnosi (0,5%) rispetto alle recidive (17%).
- Dei 16 isolati provenienti da pazienti stranieri (tutti prime diagnosi), 14 erano sensibili a tutti i farmaci testati; si è osservata una singola resistenza alla STR (6,2%) e una doppia resistenza NO-MDR (RIF-EMB) (6,2%). Nessuno era MDR.
- Nella popolazione esaminata, quindi, la diffusione di ceppi MDR relativa alle tubercolosi di 1° accertamento sembra essere trascurabile.

Resistenza ai farmaci antitubercolari in 244 ceppi di <i>M. tuberculosis</i> isolati in Puglia				
Farmaci	NUOVI CASI (n=185)		RECIDIVE (n=59)	
	n	%	n	%
resist. ad 1 farmaco				
INH	9	4,9	4	6,8
RIF	1	0,5	2	3,3
STR	26	14	5	8,5
EMB	0	0	0	0
PIZ	2	1,1	3	5,1
Totale	38	20,5	14	23,7
resist. a più farmaci (no MDR)				
INH+STR	2	1,1	-	-
EMB+STR	3	1,6	-	-
EMB+RIF	1	0,5	-	-
INH+EMB+STR	1	0,5	-	-
INH+STR+PIZ	-	-	1	1,7
STR+RIF	-	-	1	1,7
Totale	7	3,7	2	3,4
resist. a più farmaci (MDR)				
INH+RIF	1	0,5	2	3,4
INH+RIF+STR	-	-	1	1,7
INH+RIF+PIZ	-	-	2	3,4
INH+RIF+STR+EMB	-	-	1	1,7
INH+RIF+EMB+PIZ	-	-	1	1,7
INH+RIF+STR+EMB+PIZ	-	-	3	5,1
Totale	1	0,5	10	17
Stipiti sensibili ai 5 farmaci				
INH+RIF+STR+EMB+PIZ	139/185	75,1	33/59	55,9

**P112**

**MONITORAGGIO DELLA RESISTENZA DI MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS NELL'AREA DI FOGGIA, PUGLIA.**

Di Taranto A, \*Mosca A, De Nittis R., Antonetti R., \*Miragliotta G..

\*Sezione di Microbiologia, Dip. MIDIM, Università di Bari, P.zza G. Cesare, 70124 Bari

**Scopo:** La tubercolosi rappresenta oggi un problema riemergente di sanità pubblica soprattutto in relazione alla selezione di ceppi multiresistenti (MDR). Il nostro lavoro è stato quello di valutare l'andamento dell'antibiotico resistenza di *M. tuberculosis* prendendo in esame i dati riguardanti gli ultimi 4 anni.

mi 4 anni.

**Materiali e metodi:** Negli anni 2000-2003 nel laboratorio di Microbiologia degli Ospedali Riuniti di Foggia sono stati valutati per la ricerca di *M. tuberculosis* 2744 (590, 623, 664, 867) campioni respiratori provenienti da pazienti ospedalizzati ed ambulatoriali. Il sistema Bactec 960 TB (Becton&Dickinson) è stato utilizzato per l'isolamento, mentre per la valutazione della sensibilità ai farmaci antitubercolari tradizionali (RIF, SM, EMB, IHN) è stato utilizzato il sistema MGIT.

**Risultati:** Sono stati isolati 182 (45, 48, 30, 59) ceppi di *M. tuberculosis*. La percentuale annuale di positività ottenuta è stata rispettivamente del 7.6%, 7.7%, 4.5% e 6.8%. I dati di sensibilità sono riportati in tabella

Anno	N° ceppi					
	sensibili		resistenti			
		SM	INH	SM, INH	INH, EMB	SM, MDR EMB
2000	34	7	1	3		
2001	42	5	1			
2002	19	4	4		1	2
2003	43	6	5	2		3

**Conclusioni:** I risultati mostrano che negli ultimi 4 anni l'incidenza della malattia tubercolare è rimasta pressoché invariata ma il dato degno di attenzione è stato la comparsa nel 2003 dei primi 3 ceppi di *M. tuberculosis* resistenti a RIF e INH da noi isolati.

**P113**

**EPISODIO FAMILIARE DI TUBERCOLOSI POLMONARE DA MYCOBACTERIUM BOVIS**

\* Fabio A., \*\* Perilli C., \*\* Greci M., \*\*\*Martino A.

\*Arcispedale S. Maria Nuova, Reggio Emilia

\*\* Igiene Pubblica, Reggio Emilia

\*\*\*Dipartimento di Scienze Igienistiche, Microbiologiche, Biostatistiche, Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia

Viene descritto un episodio di tubercolosi polmonare da *Mycobacterium bovis* che ha coinvolto in sequenza tre componenti della stessa famiglia. Il primo paziente (nato nel 1943, residente a Reggio Emilia, di professione operaio) che presentava dal novembre 1999 tosse produttiva e dispnea da sforzo ed aveva sempre rifiutato accertamenti, veniva ricoverato in ospedale il 6.7.2000. L'esame colturale su broncoaspirato ed espettorato risultò positivo per *Mycobacterium tuberculosis* complex ed all'identificazione risultò trattarsi di *Mycobacterium bovis*. Il paziente era addetto alla manutenzione del depuratore fanghi di una ditta di lavorazione carni. Al controllo effettuato sui 3 conviventi e su una figlia non convivente, il broncoaspirato della figlia convivente, ricoverata 20 giorni dopo il padre, risultò positivo per *Mycobacterium tuberculosis* complex ed identificato come *Mycobacterium bovis*. I due ceppi isolati dal padre e dalla figlia, sottoposti a RFLP DNA fingerprinting e spoligotyping, hanno presentato un identico pattern. Gli altri familiari risultarono negativi alla Mantoux. La figlia non convivente, HIV positiva da circa due anni, nel giugno 2003 tornò a vivere in famiglia. Ricoverata per sospetta tubercolosi polmonare il 31.10.2003, risultò negativa alla Mantoux e positiva all'esame microscopico; gli esami colturali del broncoaspirato e dell'espettorato effettuati con Bactec Migit 960 risultarono entrambi positivi per *Mycobacterium tuberculosis* complex. Alle prime prove biochimiche il ceppo isolato

sembra appartenere alla specie *Mycobacterium bovis*; la tipizzazione è tuttora in corso. Questo episodio di probabile trasmissione interumana, verificatosi in un' area pressoché indenne da tubercolosi bovina, può rappresentare, qualora completamente chiarito, un evento degno di attenzione al fine dell'adozione di adeguate norme di prevenzione. La tipizzazione dei ceppi con metodi molecolari potrà meglio contribuire alla identificazione della catena di trasmissione ed alla conoscenza delle caratteristiche biologiche degli isolati.

## P114

### PRESENTAZIONE DA UN AVIUM COMPLEX: PRESENTAZIONE DI UN CASO CLINICO

Caola I., Sella D.\*, Dalpiaz A.\*, Guerzoni M.L.\*, Sartori R., Caciagli P.

Lab. Microbiologia e Virologia, Osp. S. Chiara, Trento  
\* U.O. Pneumologia, Ospedale S. Chiara, Trento

**Introduzione.** Nelle persone immunocompetenti la pneumopatia da micobatteri non tubercolari è rara, di difficile definizione diagnostica e comporta una gestione terapeutica complessa, prolungata, dall'esito talora incerto. I micobatteri appartenenti al complesso MAC (*Mycobacterium avium* complex) sono i patogeni più frequentemente responsabili. Per la diagnosi, i dati microbiologici indispensabili sono la positività di almeno due esami colturali dell'espettorato oppure di almeno un broncoaspirato, in contesto clinico-radiologico compatibile. La sintomatologia, aspecifica, può richiamare tutte le broncopneumopatie croniche infettive. Gli aspetti radiologici possono essere indistinguibili da quelli della tubercolosi polmonare oppure caratterizzati da broncochiectasie, in frequente associazione con opacità focali, noduli o micronoduli.

**Caso clinico.** Pneumopatia da MAC in uomo di 64 anni, immunocompetente, non fumatore, con storia clinica di riacutizzazione bronchitiche recidivanti, spesso accompagnate da emoftoe, esordita circa 7 anni prima. Nel corso dei vari ricoveri ospedalieri, il paziente è stato riconosciuto portatore di broncochiectasie medio polmonari bilaterali accompagnate da piccole aree di consolidamento parenchimale. Dai numerosi esami colturali dell'espettorato e dal broncoaspirato sono isolati ripetutamente *S. aureus* e *H. influenzae* spesso in associazione; la coltura per micobatteri è risultata sempre negativa. In corso di ennesima riacutizzazione bronchitica l'esame colturale del lavaggio bronchiolo-alveolare (BAL) ha rivelato la presenza di MAC. Poiché l'antibiotico-terapia aspecifica, già adottata nel contempo, aveva determinato un netto miglioramento, si ritenne clinicamente non conclusivo l'isolamento ottenuto. Nel BAL prelevato ad un controllo broncoscopico successivo si è confermata la presenza di MAC, avvalorando la diagnosi di micobatteriosi polmonare non tubercolare. I MAC sono stati isolati poi anche da diversi campioni di espettorato. Il paziente è in tgrattamaneto, previsto della durata complessiva di almeno 18 mesi, con claritromicina, etambutolo e rifabutina. Non è dato sapere con certezza se la pneumopatia da MAC sia insorta su bronchiectasie preesistenti e misconosciute, oppure se queste si siano formate in conseguenza della infezione da micobatteri.

**Conclusioni.** Il caso osservato pone in risalto la necessità di ricercare con accuratezza i MOTT, soprattutto su prelievi broncoscopici, nei pazienti immunocompetenti affetti da bronchiectasie che presentino riacutizzazioni bronchitiche frequenti. Il contributo del microbiologo risulta fundamenta-

le nel supportare il clinico nella definizione di diagnosi difficili e complesse.

## BIBLIOGRAFIA

1. Catanzaro A., Daley C.L., Guets eds. Lung disease due to Nontuberculous Mycobacterial Infections. Clin Chest Med 2002;23:529-686

## P115

### DETECTION OF ETHAMBUTOL-RESISTANT MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS STRAINS BY A PYROSEQUENCING METHOD TARGETING EMBB CODON 306 VARIATIONS

Isola D.\*, Pardini M., Varaine F., Fattorini L., Orefici G., Meacci F., Trappetti C., Oggioni M.R., the LONG-DRUG study group and Orrù G\*.

\* Università degli Studi di Cagliari -  
Dip. Scienze Odontostomatologiche -  
O.B.L. Oral Biotechnology Laboratory - Cagliari

Resistance to ethambutol (EMB) in *Mycobacterium tuberculosis* strains has been assigned to an operon, *embCAB* encoding arabinosyl transferases, the putative targets of the drug. Mutations in the *embB* gene lead to resistance to EMB in *M. tuberculosis*. The majority of mutations described so far that lead to EMB resistance mapped to codon 306.

Using the pyrosequencing technology we analysed a 24 bp region of the *embB* gene corresponding to codon 306 to 313 in 29 clinical isolates. A suspension of heat-inactivated bacterial cells was used for PCR amplification of a 344 bp fragment of *embB* using a forward 5' biotinylated primer. The biotinylated PCR product was immobilized to streptavidin-coated beads. The beads were transferred to a filter plate and single stranded DNA was separated by subsequent steps: vacuum filtration and denaturation by a specific denaturation solution, following the standard protocol. The single strand template was annealed at 60°C for 5 minutes with sequencing primer (OG 242). The samples were sequenced on a PSQ 96 System and analysed with SQA software. In 29 *M. tuberculosis* clinical isolates, 9 (31%) contained mutations in *embB* at the 306 codon with 3 different alleles. In particular the observed mutations were: ATG306AT<sub>A</sub> (4), ATG306AT<sub>C</sub> (3) and ATG306GT<sub>G</sub> (2).

Results demonstrate that this method is able to detect *embB* mutations in very short time (max 5 hours for 96 samples) and represents a valid molecular method to predict resistance to EMB in *M. tuberculosis* clinical isolates.

The LONG-DRUG study group is composed of Marco R. Oggioni, Francesca Meacci, Università di Siena, Francesco Checchi, Epicentre Paris, Graziella Orefici, Manuela Pardini, Lanfranco Fattorini, Istituto Superiore di Sanità Roma, Peter Andrew, Mike Barer, University of Leicester, Heinz Rinder, University of München, Sabine Rüscher-Gerdes, Stefan Niemann, Research Centre Borstel, Germano Orrù, Università di Cagliari, Francis Varaine, Médecins Sans Frontières Paris, and Thierry Jarosz 3Es Paris. The LONG-DRUG study is supported by EC grant QLK-CT-2002-01612.