

mentoso, debolmente alcool acido resistente che si ritrova abitualmente nel suolo.

#### Scopo del lavoro.

Descrizione di un caso clinico di Nocardiosi cerebrale in paziente immunocompromesso

#### Caso clinico.

Si riporta il caso di un paziente di 72a affetto da linfoma non Hodgkin che si presenta al pronto soccorso del nostro ospedale per disturbi del visus, stato di confusione e cefalea. Ricoverato in un reparto di medicina, si assiste ad un peggioramento dei sintomi, senso di peso e formicolio, diminuzione della forza al braccio e alla gamba destra, in breve tempo afasia e stato di sopore. TAC e RMN mostrano la presenza di una formazione in sede parietale multiloculata a struttura fluida circoscritta da spesse pareti, di probabile natura ascessuale o eteroplastica. Il paziente presenta un picco febbrile per il quale viene instaurata terapia antibiotica empirica. In considerazione del peggioramento clinico si procede ad un intervento di craniotomia e asportazione della lesione espansiva cerebrale. In sede d'intervento poiché le caratteristiche morfologiche della lesione depongono per una raccolta ascessuale cerebrale viene eseguito un drenaggio chirurgico con invio del materiale purulento al Laboratorio di Microbiologia.

#### Materiali e Metodi.

L'esame culturale della raccolta ascessuale inviata al Laboratorio di Microbiologia mostrava, dopo 3 giorni d'incubazione, sviluppo su agar sangue e agar cioccolato di colonie di consistenza secca e gessata, grinzose di colore bianco-grigiastre con caratteristico odore pungente di muffa. La colorazione di Gram mostrava forme ramificate Gram positive. La colorazione di Ziehl Neelsen modificata mostrava forme ramificate debolmente acido alcool resistenti. La positività all'ureasi, l'idrolisi della caseina, la resistenza al lisozima, confermavano la diagnosi microbiologica di *Nocardia asteroides*.

#### Conclusioni.

Veniva instaurata terapia mirata con Co-trimossazolo e si assisteva ad un miglioramento delle condizioni cliniche del paziente. Sebbene non molto frequente la nocardiosi deve essere presa in considerazione nella diagnosi differenziale di febbre accompagnata da sintomi neurologici nei pazienti immunocompromessi. Un precoce intervento medico e chirurgico ed un accurato referto microbiologico sono determinanti per trattamento adeguato ed un esito favorevole della malattia.

## P129

### SENSIBILITA' IN VITRO AL FLUCONAZOLO DI ISOLATI VAGINALI DI *CANDIDA* spp.

<sup>1</sup>Asticcioli S., <sup>1</sup>Migliavacca R., <sup>1</sup>Nucleo E., <sup>2</sup>Spalla M., <sup>1</sup>Zara F., <sup>2</sup>Sacco L., <sup>1</sup>Romero E., <sup>1</sup>Pagani L.

<sup>1</sup>Dip. S.M.E.C. sez. di Microbiologia, Università di Pavia, via Brambilla 74, 27100 Pavia;

<sup>2</sup>Servizio Analisi Microbiologiche I.R.C.C.S. "S. Matteo", p.le Golgi, 27100 Pavia.

**Obiettivo** Scopo dello studio è stato valutare l'attività *in vitro* del fluconazolo, antimicotico ampiamente utilizzato sia per la profilassi che per il trattamento delle infezioni fungine, nei confronti di isolati di *Candida* spp. Le vaginiti da *Candida* rappresentano infatti una patologia in evoluzione per aumento dell'incidenza e comparsa di fenomeni di farmaco-resistenza.

**Metodologie** Negli anni '00-'03 160 tamponi vaginali sono

stati raccolti da pazienti afferenti all'ambulatorio dell'I.R.C.C.S. S. Matteo di Pavia. I miceti isolati sono stati identificati mediante esame macro e microscopico, terreni selettivi (*Cromalbicans*, Biolife), caratterizzazione del profilo biochimico-metabolico attraverso kit commerciali (API 20 C AUX - BioMérieux) e strumenti automatizzati (VITEK system- BioMérieux) e sono stati testati *in vitro* per la sensibilità al fluconazolo mediante il metodo di microdiluzione in brodo Sensititre YeastOne. I risultati sono stati interpretati tramite i breakpoint di riferimento NCCLS (M27-A).

**Risultati** I ceppi sono risultati sensibili al fluconazolo nel 65.1% dei casi, sensibili dose-dipendente nel 17.2% e resistenti nel 17.7% dei casi.

La distribuzione della farmaco-resistenza ha rivelato variazioni in rapporto alle specie considerate.

*C. albicans*, specie isolata nel 51.7% dei casi, ha mostrato elevata sensibilità verso il composto azolico (91%). *C. glabrata*, presente nel 28.9% dei casi, è risultata resistente al fluconazolo con percentuali maggiori (17.3%). Analogamente *C. tropicalis* e *C. krusei*, seppur con risultati diversi.

I ceppi di *Saccharomyces cerevisiae*, *C. parapsilosis*, *C. lusitanae*, *C. guilliermondii*, *C. kefyri*, *C. lambica* e *Trichosporon* spp. sono risultati sensibili nel 100% dei casi.

**Conclusioni.** Come osservato in altri studi, la percentuale di ceppi di *C. glabrata* classificati come sensibili dose-dipendenti o resistenti è risultata maggiore di quella rilevata per le altre specie saggiate e l'innata resistenza al fluconazolo di *C. krusei* è stata confermata.

La corretta identificazione a livello di specie assume perciò un'indubbia importanza in quanto a specie differenti è correlata una diversa farmaco-resistenza.

## P130

### IDENTIFICAZIONE RAPIDA DI INFEZIONE DA MICETI IN CAMPIONI BIOLOGICI: UTILIZZO DI UNA PCR-RFLP

Paglia M.G., Bordi E., Mezzo I., Nebuloso E., Pucillo L.P., Visca P.

Laboratorio di analisi Chimico - Cliniche e Microbiologia - Unità di Microbiologia Molecolare, I.N.M.I. L. Spallanzani, IRCCS, Roma.

Le micosi sistemiche rappresentano una delle complicanze più gravi nei pazienti immunocompromessi, nei trapiantati d'organo solido e/o di midollo osseo, nei pazienti oncologici e nei soggetti con AIDS, per i quali le infezioni da *Candida*, *Cryptococcus* e *Aspergillus* costituiscono le patologie fungine più frequentemente riscontrate. I metodi tradizionali per l'identificazione dei miceti includono l'esame morfologico e l'allestimento di saggi biochimici per l'identificazione di specie fungina. Tali sistemi sono laboriosi e talvolta non conclusivi per alcune specie rare. La diagnosi culturale di queste infezioni è tardiva e non di rado è basata sull'esclusione di patologie batteriche o virali. Tale limitazione può essere superata da mezzi diagnostici che forniscano al contempo una rapida individuazione del micete ad una corretta assegnazione tassonomica. I metodi molecolari basati sull'amplificazione dei geni che codificano per gli RNA ribosomali (rDNA) costituiscono un valido strumento di diagnosi: (i) rDNA è sovente multicopie nei genomi microbici e questo rende il sistema più sensibile; (ii) sequenze variabili nel contesto genico conservato (ad esempio dei 18S rDNA) sono utili per il riconoscimento di genere oltre che di specie.

**Obiettivo.** Applicare e valutare una metodica diagnostica su base genetica mediante PCR-RFLP che consenta l'identifica-

zione diretta di miceti in campioni biologici.

**Materiali e Metodi.** L'identificazione fenotipica dei miceti isolati dai materiali biologici (4 liquidi cefalorachidiani e 6 campioni respiratori), è stata eseguita con il sistema RapID Yeast Plus System (Remel). Il DNA del ceppo di controllo (*Candida albicans* ATCC 60193), dei 10 campioni biologici e dei corrispondenti 10 isolati clinici (2 *C. albicans*, 2 *C. krusei*, 2 *C. tropicalis*, 1 *C. lusitanae*, 1 *Aspergillus fumigatus*, 2 *Cryptococcus neoformans*) è stato estratto con QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen), previa digestione enzimatica. Un tratto del gene codificante il 18S rRNA è stato amplificato con i primers NS5/NS6. Tale sistema di amplificazione ha consentito di rivelare fino a 10 CFU di *C. albicans* (ATCC 60193). I prodotti di PCR (circa 310 bp) sono stati digeriti con l'enzima di restrizione *HaeIII*.

**Risultati e Conclusioni.** I risultati ottenuti sui campioni biologici e sugli isolati erano sovrapponibili. Dopo digestione enzimatica si sono ottenuti i seguenti profili di restrizione: *Candida* spp. 2 frammenti (163 e 147 bp); *C. neoformans* 3 frammenti (147, 87 e 76 bp); *A. fumigatus* 4 frammenti (147, 74, 59 e 30 bp). Questi risultati preliminari suggeriscono che la PCR-RFLP, è applicabile alla differenziazione dei 18S rDNA di specie fungine patogene. La metodica, applicata su campioni clinici, si è rivelata di semplice esecuzione ed attendibile e pertanto può essere considerata una valida integrazione ai metodi di identificazione tradizionali.

## P131

### FUNGEMIA DA SPOROBOLOMYCES SALMONICOLOR IN UN OSPITE IMMUNOCOMPROMESSO. PRIMO CASO DESCRITTO IN ITALIA.

Podda R.\*, Aresu M.G.\*, Consagra M.C.\*, Porcu P.P.\*, Fiori G.M.\*, Sanna M.\*

\*Laboratorio Analisi Chimico Cliniche e Microbiologia - Ospedale Oncologico "A. Businco - Cagliari

°Oncoematologia Pediatrica - Ospedale Regionale per le Microcitemie - Cagliari

*Sporobolomyces salmonicolor*, un lievito appartenente alla classe degli Urediniomiceti, si trova comunemente nell'ambiente: nell'aria, nel suolo, nelle acque. Il suo habitat naturale comprende anche i mammiferi, gli uccelli e le piante (corteccia delle arance).

In vitro cresce rapidamente sui terreni di coltura con colonie cremose, opache con caratteristico colore rosa-salmone. *Sporobolomyces salmonicolor* può causare molto raramente infezioni nei pazienti immunocompromessi (AIDS, chemioterapici) o nei pazienti con cateterizzazione prolungata; in letteratura sono riportati pochissimi casi negli Stati Uniti.

Caso clinico. Questo caso si riferisce ad una paziente di 23 anni, affetta dal gennaio 2003, da neoplasia a cellule germinali di tipo misto nella regione soprasellare, in terapia immunosoppressiva (secondo protocollo SIOP CNS GCT 96) e cateterismo prolungato.

Ad agosto del 2003 durante un ricovero presentò ipertensione e le venne richiesta un'emocoltura che venne da noi eseguita col sistema Bactec 9240 della B.D.. Dopo 3 giorni lo strumento ci segnalò la positività del campione che venne immediatamente seminato, venne inoltre allestito un vetrino per la colorazione di Gram. Dall'osservazione microscopica si osservò la presenza di miceti. Il reparto di provenienza venne prontamente avvisato e la paziente venne trattata con fluconazolo (6mg/kg/die per 10 gg.). Il giorno successivo, era evidente la crescita su Agar cioccolato e su Sabouraud di colo-

nie rosa salmone. Col sistema API della bioMerieux il micete venne identificato come *Sporobolomyces salmonicolor*. L'antimicogramma indicò la sensibilità dello stesso alla fluocitosina, all'anfotericina, alla nistatina, al miconazolo, all'econazolo ed al chetoconazolo nonché al voriconazolo ed al fluconazolo.

La paziente durante il trattamento subì un miglioramento del quadro clinico con scomparsa della febbre.

Tuttavia, a distanza di un mese i sintomi si ripresentarono e venne ripetuta l'emocoltura la quale risultò di nuovo positiva. Venne ancora isolato *Sporobolomyces salmonicolor*.

Il trattamento con Ambisone (3 mg/kg/die per 28 gg.) determinò la definitiva guarigione della paziente.

## P132

### NOCARDIOSI POLMONARE E CEREBRALE IN GIOVANE TRAPIANTATO DI RENE

Grancini A., Ranzi M.L., Lenza A.R., Maraschini A., Perego L., Ghio L.\*, Farina C.°

Lab. Centrale Analisi Chimico Cliniche e Microbiologia IRCCS Ospedale Maggiore - Milano

\*U.O Nefrologia, Dialisi e trapianto pediatrico -

Az. Ospedaliera ICP, Milano

°U.O Microbiologia - Az. Ospedaliera Ospedale San Carlo Borromeo, Milano

**Introduzione** Batteri del genere *Nocardia* sono saprofiti ubiquitari, vivono nel suolo, in substrati organici e nell'acqua. La Nocardiosi è rara ed abitualmente causa infezioni cutanee e sottocutanee, polmonari o disseminate con localizzazioni cerebrali, oculari, ossee, renali e a vari organi e tessuti.

**Caso clinico** B.G. di 13 anni affetto da uropatia ostruttiva riceve trapianto di rene a giugno 2003, dopo 8 anni di trattamento dialitico. La ripresa funzionale è immediata. Ad agosto 2003 compare febbre intermittente non responsiva a trattamento antibiotico empirico e radiologicamente viene evidenziato un addensamento polmonare. La Tac cerebrale mostra plurime lesioni di probabile natura ascessuale.

Nel novembre 2003 da biopsia polmonare e da broncoaspirato vengono evidenziati previa colorazione bastoncini gram positivi ramificati, isolati successivamente in coltura pura e rivelatisi debolmente alcool-acido resistenti.

Il microrganismo risulta scarsamente sensibile al Trimetoprim/Sulfametossazolo e sensibile al Linezolid e il paziente viene trattato con 600 mg x 2 e successivamente 450 mg x 2 fino al 29 gennaio 2004 con notevole miglioramento del quadro radiologico polmonare e cerebrale. L'anemizzazione marcata e la cefalea importante inducono a sospendere almeno temporaneamente la terapia antibiotica. Dal 5 febbraio il paziente viene trattato con Meropenem 1.5 gr x 3, terapia tuttora in corso. Il microrganismo, inviato Centro Coordinatore ECMM per l'Italia (Dr. Farina), è stato identificato come *Nocardia farcinica*.

**Discussione** La Nocardiosi è una infezione opportunistica con tendenza ad invadere tutti gli organi e a recidivare a dispetto di una corretta terapia. In pazienti trapiantati di rene ha una incidenza del 2-5 %, con una mortalità stimata del 25% che raggiunge il 42% in caso di coinvolgimento del sistema nervoso centrale. Nell'80% dei casi, il coinvolgimento polmonare è il segno rivelatore dell'infezione. E' quindi doveroso nelle infezioni polmonari non responsive a terapia antibiotica, allestire un preparato microscopico che ponga il sospetto diagnostico e consenta, prolungando i tempi di incubazione, l'isolamento del microrganismo.