

comunicazioni orali

SESSIONE 2

Tipizzazione batterica

Mercoledì 15 ottobre 2003, 9.00-13.00 Sala Giotto,
Palazzo Affari 3° piano

CO2.1

RIBOTIPIZZAZIONE AUTOMATICA NELLA TIPIZZAZIONE DI CEPPI DI *STENOTROPHOMONAS MALTOPHILIA*

**Barbarini D., D'Avolio A.*, Pillitteri L.,
Carretto E.**

Laboratori Sperimentali di Ricerca, Area Infettivologica,
IRCCS Policlinico "San Matteo", Pavia e (*) Dip. Discipline
Med.-Chir. Malattie Infettive, Ospedale "Amedeo di Savoia",
Università degli Studi di Torino

Stenotrophomonas maltophilia (SM) è un patogeno opportunista, che causa per lo più infezioni polmonari o sistemiche (sepsi). Occasionalmente isolato in pazienti comunitari, è assai più frequente in ambito nosocomiale, ove può manifestarsi con microepidemie dovute alla sua buona sopravvivenza ambientale (in particolare in soluzioni acquose). Le sue particolari caratteristiche di resistenza agli antibiotici e la sua diffusibilità raccomandano, in presenza di suoi isolamenti ripetuti, la messa in atto di procedure di sorveglianza e controllo. Il microbiologo dovrà essere in grado di identificarlo correttamente ed, eventualmente, di tipizzarlo. Nel presente lavoro ci si è proposti di valutare l'applicabilità di una metodica molecolare, quale la ribotipizzazione con sistema automatico, nella identificazione e tipizzazione di 43 ceppi di SM isolati in differenti ambiti ospedalieri. In particolare, sono stati scelti sia ceppi fra loro correlati epidemiologicamente (ad esempio isolati dallo stesso paziente) che ceppi fra loro sicuramente non correlabili. Al fine di valutare gli enzimi più discriminanti, cioè in grado di fornire profili genomici polimorfici, abbiamo analizzato 8 ceppi con gli enzimi di restrizione *EcoRI*, *PvuII*, *PstI* e *BamHI*. Gli ultimi due hanno consentito la generazione di pattern polimorfici: con *PstI* si sono ottenute 4-8 bande, una sola delle quali monomorfa, e con *BamHI*

analogamente 4-8 bande, due delle quali monomorfe. Dopo la fase di selezione degli enzimi, sono state condotte due singole digestioni enzimatiche con *PstI* e *BamHI* sui 43 isolati. Il primo enzima ha consentito di suddividere i ceppi in 13 gruppi, mentre il secondo in 15. L'analisi combinata dei risultati ottenuti con i due enzimi ha raggruppato i ceppi in esame in 24 cluster. La tipizzazione così ottenuta è risultata in perfetta concordanza con il dato epidemiologico atteso, dimostrando che la ribotipizzazione automatica, condotta con almeno due enzimi di restrizione, può considerarsi una metodica di tipizzazione efficace per isolati di SM.

CO2.2

BURKHOLDERIA CEPACIA COMPLEX IN UN CENTRO FIBROSI CISTICA ITALIANO: EPIDEMIOLOGIA E DECORSO CLINICO NEI PAZIENTI INFETTATI CON DIFFERENTI RECA LINEAGES DI *BURKHOLDERIA CENOCEPACIA*

**Manno G.¹; Dalmastri C.²; Tabacchioni S.²;
Lorini R.¹; Minicucci L.¹; Romano L.¹;
Giannatasio A.¹; Chiarini L.² e Bevivino A.².**

Dipartimento di Pediatria, Università di Genova, Istituto
G. Gaslini, Genova¹ ;

Unità di Biotecnologie, C.R. Casaccia, Enea, Roma².

L'epidemiologia di *Burkholderia cepacia* complex (Bcc) è stata determinata in 75 pazienti seguiti presso il Centro Fibrosi Cistica (FC) dell'Istituto G. Gaslini di Genova. E' stato valutato inoltre l'andamento clinico rispetto alle differenti specie e genomovars del Bcc, nei pazienti FC infettati. Tutti i ceppi dello studio sono stati isolati da colture espettorato mediante metodiche

microbiologiche convenzionali, quindi sono stati analizzati per la determinazione del genotipo mediante il polimorfismo del gene *recA* e, successivamente, tipizzati per la clonalità mediante RAPD. *B. cenocepacia* è risultata la specie predominante isolata dai pazienti FC infettati con Bcc nel centro di Genova. Delle altre otto specie comprese nel Bcc, solo pochi isolati risultavano *B. cepacia* genomovar I, *B. stabilis* e *B. pyrrocinia*. Dei quattro *recA* lineages di *B. cenocepacia*, la maggior parte dei pazienti è risultata infettata con ceppi appartenenti ai lineages IIIA e IIID, mentre solo pochi pazienti erano presentavano il lineage IIIB. La diffusione interpersonale di Bcc tra i pazienti CF è risultata prevalentemente a carico dei ceppi di *B. cenocepacia*, in particolare i *recA* lineages IIIA e IIID. Al centro FC di Genova, la mortalità dei pazienti FC infettati con Bcc è risultata significativamente più alta della mortalità dei pazienti non infetti con Bcc. Tutti i decessi sono avvenuti in pazienti con *B. cenocepacia*, ad eccezione di un paziente infettato con *B. cepacia* genomovar I. Tra *B. cenocepacia*, le infezioni sostenute dai lineages IIIA e IIID sono state associate ad un più alto tasso di mortalità, rispetto a quelle sostenute dal lineage IIIB. Non sono state osservate differenze significative nell'andamento della funzionalità respiratoria, peso corporeo e tasso di mortalità, tra pazienti infettati con *B. cenocepacia* IIIA rispetto a quelli con *B. cenocepacia* IIID.

mucosa cronica, perdita di peso, rettorragia, sospetto carcinoma del retto (4 casi) e con sospetto morbo di Crohn (1 caso), sono stati sottoposti a colonscopia. Uno dei 5 pazienti è deceduto per tromboembolia polmonare. Le biopsie rettali dei 5 pazienti sono state sottoposte ad esame istologico e, insieme ai campioni di feci di 4 dei 5 pazienti, ad estrazione del DNA seguita da amplificazione (PCR 16S) specifica del genere *Brachyspira* e analisi dei frammenti di restrizione (RFLP) degli ampliconi (RFLP-PCR). Inoltre, aliquote degli stessi campioni, sono state utilizzate per l'isolamento delle spirochete utilizzando un metodo messo a punto nel nostro laboratorio.

Risultati e Conclusioni. L'esame istologico delle biopsie intestinali dei 5 pazienti ha evidenziato l'adesione di microrganismi spiraliformi agli enterociti. L'RFLP-PCR condotta sui campioni biologici ha mostrato un pannello di restrizione specifico di *B. aalborgi* (4 casi) e di *B. aalborgi* + *B. pilosicoli* (1 caso). Spirochete sono state isolate dai campioni di feci e biopsie rettali e identificate fenotipicamente e mediante RFLP-PCR come *B. aalborgi* (4 casi) e *B. pilosicoli* + *B. aalborgi* (1 caso). In conclusione, questo studio riporta per la prima volta l'isolamento di *B. aalborgi* (4 casi) da feci umane dimostrando la presenza di questa spirocheta non solo nelle biopsie intestinali. Viene infine descritta per la prima volta una infezione mista da *B. pilosicoli* + *B. aalborgi*.

CO2.3

DIAGNOSI DI LABORATORIO DI SPIROCHETOSI INTESTINALE DA BRACHYSPIRA AALBORGI

Calderaro A., Villanacci V¹., Bommezzadri S, Piccolo G., Zuelli C., Incaprera M., Guégan R., 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;

¹Secondo Dipartimento di Patologia Chirurgica, Spedali Civili, Università di Brescia, via Spedali Civili 1, 25123 Brescia.

Introduzione. La spirocheta *B. aalborgi*, recentemente considerata potenziale agente eziologico di spirochetosi intestinale umana (SIU), è stata isolata fino ad oggi in soli due casi al mondo da biopsie intestinali. In questo studio riportiamo la descrizione di 5 casi di SIU da *B. aalborgi* in pazienti italiani e per la prima volta in assoluto l'isolamento della spirocheta da feci umane.

Materiali e Metodi. Cinque pazienti con diarrea