

comunicazioni orali

SESSIONE 3

Infezioni Nosocomiali e controlli ambientali

Giovedì 16 ottobre 2003, 9.00-13.00,
Sala Leonardo Palazzo Affari piano - I
Sala Galileo Palazzo Affari 2° piano

CO3.1

TIPIZZAZIONE MOLECOLARE DI CEPPI DI *LEGIONELLA* NELLE INFEZIONI NOSOCOMIALI E COMUNITARIE

Franzin L.

Sezione Malattie Infettive, Università di Torino.
Ospedale "Amedeo di Savoia",
Corso Svizzera 164, 10149 Torino.

Introduzione: La modalità più comune della trasmissione della polmonite da *Legionella* è l'inalazione di aerosol contaminato proveniente da acqua di doccia e di rubinetto. Trattandosi di batterio acquatico ubiquitario con serbatoio ambientale, la tipizzazione molecolare dei ceppi di *Legionella* isolati dal paziente e dall'ambiente è fondamentale in quanto permette di stabilire la relazione di clonalità dei ceppi epidemiologicamente correlati e di riconoscere la sorgente di infezione. In questo lavoro viene presentata una rassegna delle tecniche molecolari utili allo scopo e la nostra esperienza applicata in casi di legionellosi di origine nosocomiale e comunitaria.

Metodi: I ceppi clinici e ambientali sono stati isolati con procedure adottate nel nostro Laboratorio da un ventennio, mediante l'uso combinato di vari terreni (BCYE, BMPA e MWY) e di diversi trattamenti. I ceppi sono stati tipizzati con metodi sierologici; gli isolati di *L. pneumophila* sierogruppo 1 sono stati anche tipizzati con anticorpi monoclonali. I ceppi clinici e ambientali correlati isolati in 4 episodi di infezione nosocomiale e in uno comunitario sono stati esaminati con PFGE (pulsed field gel electrophoresis) e con RAPD-PCR (random primers amplified polymorphic DNA). In un caso ospedaliero sono state anche usate AFLP (amplified fragment length polymorphism), f-AFLP (fluorescent-AFLP analysis) e il

sequenziamento del gene *mip*.

Risultati: Le tecniche molecolari hanno dimostrato che i ceppi isolati dal paziente e quelli ambientali correlati presentavano lo stesso profilo, mentre risultavano differenti rispetto a quelli non correlati. La validità delle tecniche dipendeva dal loro potere discriminante e dalla loro sensibilità.

Conclusione: La tipizzazione molecolare dei ceppi ha consentito di riconoscere in maniera inequivocabile la sorgente di infezione nei 5 episodi studiati. Si sottolinea l'importanza della ricerca colturale dai campioni clinici; la disponibilità dei ceppi clinici e ambientali consente infatti la loro tipizzazione con tecniche molecolari che sono di grande utilità ai fini epidemiologici.

CO3.2

STUDIO SIEROEPIDEMIOLOGICO SU PRESUNTI CASI NOSOCOMIALI DI LEGIONELLOSI PRESSO LA CASA DI RIPOSO DI LISSONE

**Panuccio A., Bellasio A., Biagiola P., Lazzaro E.,
Marrone A., Pasquali D.**

U.O. Immunologia e Virologia
Laboratorio Sanità Pubblica di Milano

Scopo L'indagine sieroeziologica avviata sul suddetto centro ha preso origine dal rilievo di alcuni pazienti deceduti in un arco molto ristretto di tempo, per sospetta legionellosi, e dal rilevamento di alcuni ceppi di *Legionella pneumophila* nelle condutture idriche dell'edificio. Il controllo sierologico ha coinvolto 274 soggetti della casa di cura di cui 107 pazienti e 167 dipendenti.

Metodologia Per l'effettuazione degli esami di laboratorio ci siamo avvalsi dei reattivi (metodica IFA) forniti dalla casa produttrice tedesca Poiesys, che ci ha permesso di testare i campioni per la definizione del

titolo anticorpale, con i 14 sierotipi di Legionella Pneumophila suddivisi in 4 mix. Ogni mix raggruppa i seguenti sierotipi.

MIX 1: sierotipi 1,4,6,8 MIX 4: sierotipi 10,12,14
MIX 2: sierotipi 2,3,5,7 MIX 3: sierotipi 9,11,13

Per la diluizione di saggio dei sieri ci siamo attenuti alla metodica allegata al test: diluizione di screening 1/100 (positività scarsamente significativa) ed ulteriori diluizioni a partire da 1/320 in caso di positività riscontrata alla dil. 1/100.

Positività significativa per sospetta infezione recente: $\geq 1/320$

Risultati Il campione è stato suddiviso in due sottopopolazioni: popolazione pazienti e popolazione dipendenti. La popolazione dei pazienti (n=107) risulta a prevalenza femminile, essendo composta da 83 persone di sesso femminile e 24 di sesso maschile. I reattivi o debolmente reattivi alla diluizione 1/100 sono risultati 28, di cui 9 presentavano positività $\geq 1/320$.

Pertanto sul campione pazienti esaminato si è riscontrata una positività ($\geq 1/320$) dell'8,4% così suddivisa sui 4 mix :

mix 1: 7 (64%) mix 2: 2 (18%)
mix 3: 1 (9%) mix 4: 1 (9%)

Il numero totale delle positività (11) riscontrate sui mix risulta maggiore di 9 (corrispondente al n° di campioni positivi) in quanto 2 sieri reagivano con più di un mix. Anche per la popolazione dei dipendenti rappresentata da 167 soggetti (139 F, 28 M) è stata applicata la medesima procedura tecnica. Allo screening alla diluizione 1/100 sono risultati positivi o debolmente positivi 28 campioni di cui 5 alla dil. $\geq 1/320$.

Pertanto la percentuale di positività significativa si staglia al 3%. Le positività riscontrate sui 4 mix risultano così distribuite:

mix 1:0 mix 2:0 mix 3:1 (25%) mix 4:4 (75%)

Analizzando il campione nella sua globalità si ottengono le seguenti percentuali di reattività:

Reattività globale: 5,1% (14 campioni su 274).

Reattività dei campioni sui vari mix: 16 (2 campioni hanno reagito con più di un mix allo stesso titolo)

mix 1: 7 (44%) mix 2: 2 (12,5%)
mix 3: 2 (12,5%) mix 4: 5 (31%)

Dai dati ottenuti, si può evincere che:

La popolazione dei pazienti risulta percentualmente più reattiva (8% contro 3%) rispetto a quella dei dipendenti, in ragione della età più avanzata della prima.

Nella popolazione pazienti la risposta più reattiva si è ottenuta con il mix 1 (sierotipi 1,4,6,8) mentre nella pop. dipendenti ha prevalso il mix 4 (sierotipi 10,12,14).

Una susseguente indagine più approfondita consistente nel saggiare ogni campione risultato positivo ai mix ($\geq 1/320$), con i 14 singoli sierotipi di Legionella P. ha evidenziato, sia pure a titolo più bassi, una risposta immunitaria maggiormente rivolta verso i sierotipi

4,8,12,14, risultato che convalida quanto ottenuto saggiando preliminarmente ogni siero con i 4 mix.

Considerando la risposta anticorpale complessiva al titolo 1/100, il mix 4 (10,12,14) con 42 reattività (comprese le deboli) ha ottenuto la maggiore rappresentatività.

Conclusioni I risultati ottenuti possono essere considerati in linea con altre indagini sierologiche effettuate in Italia e all'estero anche se a onore del vero si rilevano in alcuni lavori delle discrepanze legate spesso ai metodi utilizzati. In mancanza di isolamento del batterio nell'uomo nei casi clinicamente sospetti, lo studio sierologico retrospettivo e l'isolamento colturale del batterio dall'ambiente risultano solamente indicativi e quand'anche i due collimassero, essi risulterebbero solo presuntivi di avvenute infezioni allorché la risposta immunitaria contro il sierotipo od i sierotipi incriminati, coincidono con il sierotipo isolato a livello ambientale.

Non sussistendo tutti e due questi elementi ossia, isolamento e tipizzazione del batterio nell'uomo, isolamento e tipizzazione del batterio nell'ambiente implicato, lo studio sierologico retrospettivo consente di intervenire con una base di discussione più ampia negli studi epidemiologici di ambienti confinati, in particolare modo quando non è imputato il sierogruppo 1 responsabile di circa il 70% dei casi clinicamente manifesti.

CO3.3

LA PROCALCITONINA COME INDICATORE DI SIRS, SEPSI E SHOCK SETTICO

Rossetti R., Corsini G.

U.O. Microbiologia, Spedali Riuniti, Azienda 3, Pistoia

Scopo

Verificare la validità della determinazione della procalcitonina come indicatore diagnostico di sepsi, sepsi severa e shock settico, a supporto della diagnosi clinica.

Metodo

È stato definito un protocollo di studio che prevedeva il reclutamento di tutti i pazienti ricoverati nel reparto di terapia intensiva dell'ospedale di Pistoia nel primo semestre 2002 su cui è stata eseguita la determinazione della procalcitonina nel sangue a giorni alterni, con il test quantitativo LUMitest[®] PCT (B·R·A·H·M·S, Berlino), contemporaneamente alla rilevazione dei parametri clinici e di laboratorio considerati dai rianimatori. Erano considerati indici di SIRS quelli indicati dalla Society of Critical Care Medicine Consensus Conference (1992).

Il valore di PCT era correlato al quadro clinico di SIRS, Sepsis o Shock settico per verificarne l'utilità