

**M022****APPLICAZIONE DELLA REAL-TIME PCR ALL'IDENTIFICAZIONE DI CAMPYLOBACTER JEJUNI CIPROFLOXACINA RESISTENTI.**

Dionisi A.M., Carattoli A., Luzzi I.

Istituto Superiore di Sanità, Roma.

L'emergenza di ceppi di *Campylobacter* resistenti ai fluorochinoloni in Europa e negli Stati Uniti, associata temporalmente con l'uso di questi farmaci nella pratica veterinaria, sta rappresentando un serio problema di sanità pubblica connesso con le infezioni umane sostenute da questo microorganismo. Sia i ceppi clinici che quelli isolati dal serbatoio animale e dagli alimenti carnei presentano percentuali simili di resistenza ai fluorochinoloni. In Italia, il 38% dei ceppi clinici di *C. jejuni* ed il 55% dei *C. coli*, sono risultati resistenti alla ciprofloxacina. Le percentuali sono ancora più alte in ceppi di origine animale. La resistenza alla ciprofloxacina (MIC  $\geq 32$   $\mu\text{g/ml}$ ) è associata alla presenza di una mutazione sul gene codificante per la subunità A dell'enzima DNA girasi (codone 86 in *Campylobacter*). Lo scopo di questo studio è stato quello di mettere a punto un sistema di identificazione di ceppi di *C. jejuni* ciprofloxacina-resistenti mediante l'uso della tecnologia FRET (Fluorescence Resonance Energy Transfer) applicata alla PCR in tempo reale (Real-Time PCR) da affiancare ad altre tecniche molecolari (PCR e sequenziamento) e classiche (agar-diffusione e MIC). Sono stati esaminati 23 ceppi di *C. jejuni* isolati nell'area del Triveneto durante il 2000 da casi clinici, da animali da reddito e da alimenti carnei. I risultati ottenuti hanno mostrato una concordanza del 100% tra la nostra tecnica e le tecniche classiche; la tecnologia FRET discrimina perfettamente i ceppi sensibili dai resistenti; inoltre ha permesso di individuare mutazioni diverse non associate alla resistenza. Questo saggio permette uno screening rapido e riproducibile di isolati di *C. jejuni* in relazione alla ciprofloxacina resistenza. Inoltre permette una caratterizzazione molecolare di isolati correlati spazialmente e temporalmente e una valutazione, in tempi brevi, dell'entità dell'antibiotico resistenza nonché il suo andamento in ceppi isolati da fonti diverse.

**M23****STREPTOCOCCUS PYOGENES: RESISTENZA IN VITRO A ERITROMICINA, CLARITROMICINA, ROKITAMICINA.**

Cava M.C., Bonanno C.L., De Sandro M.V., Lauri S., Tuccinardi C., Spanò A.

Servizio di Microbiologia e Virologia - Ospedale S. Pertini, via dei Monti Tiburtini 385- 00157 - Roma A.S.L. Rm B

**Premessa:** *Streptococcus pyogenes* è responsabile della maggior parte delle faringotonsilliti batteriche acute, che richiedono terapia antibiotica appropriata.

Dati epidemiologici del nostro laboratorio, in accordo con i numerosi dati bibliografici, documentano rispetto al decennio precedente, una diminuita suscettibilità in vitro di *S. pyogenes* nei confronti di eritromicina, macrolide ampiamente prescritto da pediatri e medici di famiglia anche per la sua buona tollerabilità.

**Obiettivo:** Lo studio si propone di analizzare la resistenza in vitro di ceppi consecutivi di *S. pyogenes* nei confronti di

macrolidi quali eritromicina, claritromicina, rokitamicina.

**Materiali e metodi:** Nel 1° trimestre 2003 sono stati isolati 71 ceppi consecutivi di *S. pyogenes* da tampone faringeo di pazienti out-come, di età compresa tra 2 e 69 anni. È stato eseguito il saggio di sensibilità agli antibiotici utilizzando dischetti di eritromicina (15mcg), claritromicina (15mcg) e rokitamicina (30mcg) secondo il metodo di Kirby-Bauer. Gli aloni di inibizione ottenuti sono stati interpretati secondo i parametri NCCLS.

**Risultati:** sono risultati resistenti 29/71 ceppi (40.8%) a eritromicina, 25/71 (35.2%) resistenti a claritromicina e 10/71 (14%) a rokitamicina.

Sommando ai ceppi resistenti quelli a resistenza intermedia abbiamo ottenuto una non suscettibilità in vitro pari al 52.1% per la molecola di eritromicina, al 40.8% per la molecola di claritromicina, 18.2% per la rokitamicina. Quattro (4) ceppi eritromicina "resistenti" hanno dato un alone di inibizione per claritromicina pari a 19 mm interpretati come "intermedi" secondo i parametri NCCLS.

**Conclusioni:** Dai risultati ottenuti accanto all'aumento di resistenza in vitro nei confronti di eritromicina si rileva una resistenza di *S. pyogenes* a tutti i macrolidi saggiati solo nel 14% (10/71) dei ceppi, da ricondurre ad un meccanismo di resistenza costitutiva, mentre nel restante 26.7% (19/71) sono probabilmente implicati differenti meccanismi di resistenza. Pertanto si ritiene che l'antibiogramma assuma un importante valore predittivo positivo per l'uso in vivo dei macrolidi.

Key words: *S.pyogenes*, resistenza, macrolidi

**M024****SENSIBILITÀ ANTIMICROBICA DI ISOLATI DA EMOCOLTURA IN PAZIENTI OSPEDALIZZATI: INCIDENZA E TREND NEL PERIODO 2000-2002**

'Venturelli C., 'Bignardi E., 'Rumpianesi F.

'Servizio di Microbiologia, Azienda Ospedaliera Policlinico, Via del Pozzo 71, 41100 Modena

**Obiettivo:** Valutare il trend di sensibilità antibiotica dei ceppi batterici isolati dalle emocolture di pazienti ospedalizzati in relazione al reparto, dal 2000 al 2002.

**Materiali e Metodi:** L'analisi retrospettiva è stata condotta sulle emocolture pervenute al Laboratorio di Microbiologia del Policlinico di Modena dal gennaio 2000 al dicembre 2002. Le emocolture sono state eseguite secondo le modalità e le condizioni indicate nel protocollo concordato con i clinici e incubate nel sistema automatico Bactec 9120 (Becton Dickinson). L'identificazione e l'antibiogramma sono stati eseguiti con metodo automatico Vitek 1 (nel 2000), Vitek 2 (dal 2001) e con metodo manuale Biomerieux.

**Risultati:** Nel triennio 2000-2002 i flaconi processati sono stati rispettivamente 18949 per il vial aerobio e 16910 per il vial anaerobio, con un incremento complessivo del 42,8% determinato dai pazienti oncologici (+115%) e dalla nuova casistica del Centro trapianti di fegato-intestino. La richiesta media di emocolture è distribuita nel modo seguente: 18,6% Malattie Infettive, 19,2% Medicina, 17,5% Centro Oncologico, 11,4% Rianimazione/Terapia Intensiva, 8,5% trapianti fegato-intestino, 6,1% Nefrologia-Dialisi-Urologia, 5,8% Reparti Chirurgici, 5,6% Reparti Pediatrici e 2,2% Malattie apparato respiratorio. La percentuale media di flaconi positivi è stata del 12%. Gli Stafilococchi sono stati la classe prevalentemente isolata (53%, 51%, 56%), *Staphylococcus aureus* (11%, 9%, 10%), *Enterobacteriaceae*

(20%,20%,15%), altri gram-negativi (11%,11%,8%), Streptococchi (5%,4%,5%), Enterococchi (4%,5%,5%), Anaerobi (3%, 2% 4%), Miceti (2%,4%,3%). La meticillino-resistenza degli Stafilococchi coag.neg. si è mantenuta costante nei tre anni con un valore medio del 65%, ma con differenze significative (da 100% a 62%) a seconda del reparto, mentre anche per *Staphylococcus aureus* notevoli differenze si sono avute a seconda del reparto (da 0% al 70%). Nel 14,6% delle *Enterobacteriaceae* si è rilevata la potenziale produzione di ESBL. La resistenza alla ciprofloxacina è decrementata del 23%, mentre la sensibilità di *Pseudomonas aeruginosa* ad amikacina, ceftazidime, meropenem è complessivamente variata da +8%, -16%, -12% con andamenti differenti per reparto, come nel caso degli isolamenti da pazienti oncologici: -11%, -14% ,+10%. Nel 2003 si è avuto il primo caso di *Enterococcus faecium* resistente ai glicopeptidi,

**Conclusioni:** Le diverse percentuali di resistenza per anno di studio e le differenti percentuali di sensibilità riscontrate in relazione ai reparti, evidenziano la necessità di monitorare il trend delle resistenze mediante programmi informatici che permettano di migliorare la elaborazione dei dati (di laboratorio e clinici), indispensabile supporto per un uso razionale degli antibiotici.

[Venturelli.c@policlinico.mo.it](mailto:Venturelli.c@policlinico.mo.it)

## M025

### UTILIZZO DEL TEST NOW S.PNEUMONIA E URINARY ANTIGEN IN ETA' PEDIATRICA

Vigano' E.F., Terrenghi L., Vasconi E., Clerici P., Savarino A.\*, Zuccotti G.V.\*

U.O.Microbiologia , \*U.O.Pediatria , A.O.  
"Ospedale Civile di Legnano" - Legnano (MI)

**Introduzione** - la letteratura non è concorde riguardo alla utilità clinica della ricerca urinaria di antigene di *S.pneumoniae* in bambini con infezioni delle basse vie respiratorie : sono riportate specificità del 93 % da alcuni ( 1 ) e frequenti false positività in bambini portatori e sani da altri . Appare pertanto necessaria una verifica della specificità del test nella nostra popolazione pediatrica.

**Obiettivi** - verificare la frequenza di colonizzazione nasale da *S.pneumoniae* e la frequenza di positività al test

**Materiali e metodi** - essudato nasofaringeo: raccolta con tamponi Amies Copan ,semina su Columbia CNA agar con 5 % di sangue di montone, incubazione a 36 °C in 5% CO2 per 24 ore. *S.pneumoniae* identificato per morfologia, caratteristiche al Gram, sensibilità alla optochina, agglutinazione positiva con antisiero Slaidex Pneumokit ( BioMerieux ); urina per antigeni *S.pneumoniae*: raccolta di 5 ml con provetta sterile, concentrazione X 50 con Amicon B15 Millipore, ricerca antigene polisaccaridico con test immunocromatografico Binax NOW

**Risultati** - Nel periodo Dicembre 2002-Marzo 2003 sono stati valutati 26 bambini , con una età mediana di 41 mesi, di cui 7 con bronchite ( gruppo A ) , 15 con polmonite (gruppo B ) , 1 con otite media ( gruppo C ) e 3 con infezioni delle alte vie respiratorie ( gruppo D ) .

Solo 4 su 26 erano portatori di *S.pneumoniae* , 1 nel gruppo A e 3 nel gruppo B : nessuno di questi era positivo al test NOW.

L'antigene era invece positivo nel 57 % dei bambini con bronchite ( gruppo A ) e nel 73 % di quelli con polmonite (gruppo B).

L'eliminazione dell'antigene si è protratta per 4 - 8 settimane nei bambini del gruppo B.

**Conclusioni** - Nel nostro studio l'eliminazione urinaria di antigene non sembra correlata alla colonizzazione ma piuttosto ad una infezione recente od acuta. Anche se questi risultati dovranno essere confermati da una maggiore casistica, riteniamo che il test NOW sia un ottimo test per fare una diagnosi eziologia non invasiva di polmonite anche in età pediatrica, oltre che negli adulti.

## M026

### PROPRIETÀ ANTIBATTERICHE DI PIANTE AROMATICHE

Fabio A.\*, Forte E.\*\*\*, Nanni H.\*\*

\*Laboratorio di Microbiologia, Arcispedale S. Maria Nuova, V.Risorgimento, Reggio Emilia\*\* ARPA, Dipartimento Tecnico, P.Malatesta 30, Rimini\*\*\*Dipartimento di Scienze Igienistiche, Microbiologiche, Biostatistiche, Università di Modena e Reggio Emilia, V.Campi 287, Modena

Molte piante o parti di piante aromatiche tradizionalmente considerate digestive vengono usate ancora oggi (foglie di citronella, menta e salvia, semi di finocchio e di comino). La parte attiva è quella oleosa responsabile di notevoli e diverse attività biologiche. Abbiamo quindi studiato l'efficacia degli estratti oleosi di piante utilizzate per l'effetto digestivo: menta piperita (*Mentha piperita*), salvia (*Salvia officinalis*), finocchio (*Foeniculum vulgare*), comino (*Cuminum cyminum*), citronella (*Cymbopogon citratus*), santoreggia (*Satureia montana*) e origano (*Origanum vulgare*) su microrganismi di isolamento clinico e alimentare (*Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* enterotossina produttore, *Staphylococcus aureus* enterotossico, *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella infantis*, *Escherichia coli*, *Plesiomonas shigelloides*) (tre ceppi per specie) secondo il metodo dell'agar-diffusione in Tryptic Soy Agar.

La minima concentrazione inibente (MIC) è stata determinata in micropiastre con l'aggiunta di Tween 20. Le prove sono state effettuate in doppio e ripetute tre volte.

Tutti i composti hanno mostrato con un diverso spettro d'azione attività antimicrobica. L'origano è risultato il più efficace (sono risultati più sensibili i germi Gram-positivi dei Gram-negativi) seguito dalla santoreggia. La menta piperita ha mostrato effetto inibente nei confronti di *B.cereus* e, in minor misura, verso *Salmonella infantis* e *Staphylococcus aureus*. La salvia e la citronella sono risultate efficaci prevalentemente verso *Staphylococcus aureus*. I semi di finocchio e di comino, dotati in genere di scarso potere antimicrobico, hanno inibito comunque la crescita di *B.cereus*. I dati ottenuti dalle MIC si allineano con quanto esposto precedentemente.

Questi risultati lasciano ipotizzare che l'uso tradizionale di alcune piante aromatizzanti nella prevenzione e nel trattamento di disturbi gastrointestinali possa essere empiricamente fondato sul loro potere antibatterico. L'esistenza di questo effetto protettivo aiuterebbe a spiegare la reputazione di queste piante aromatiche con proprietà digestive.

Si ritiene pertanto che derivati vegetali dotati di attività antibatterica possano essere utilizzati in diversi campi anche al di fuori della medicina tradizionale.