

Risultati e conclusioni: I pazienti, trattati tutti con Anfotericina B e con rimozione dei cateteri sono perfettamente guariti e tutti i controlli successivi sono risultati negativi.

G003

RISPOSTA IMMUNE ANTI-CANDIDA: RUOLO DEI LINFOCITI VAGINALI IN UN MODELLO SPERIMENTALE DI VAGINITE .

Boccanera M .,¹ Santoni G.,² Adriani D.,¹ Amantini C.,
² Lucciarini R.,² Girolamo A.,¹ Cassone A.¹ F. De Bernardis¹

¹ Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie ed Immunomediate, Istituto Superiore di Sanità, Roma, Italia

² Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Medicina Sperimentale, Università di Camerino, Camerino, Italia

C. albicans è l'agente di una infezione vaginale, la vulvovaginite, che può presentarsi anche con episodi ricorrenti piuttosto gravi. Il meccanismo di difesa a livello vaginale non è stato ancora completamente chiarito: per valutare la risposta dell'ospite è stato impiegato un modello di infezione vaginale in ratta ovariectomizzata con caratteristiche simili alla malattia umana. Nell'animale una prima infezione con *Candida* è in grado di suscitare una consistente risposta immune ad una successiva infezione, mediante la produzione di anticorpi protettivi e l'aumento di linfociti attivati a livello mucosale.

È stato condotto uno studio sulle proprietà funzionali e protettive dei vari subsets di linfociti vaginali utilizzando il trasferimento adottivo di linfociti vaginali provenienti da animali infettati e successivamente inoculati per via intravenosa in ratte naive che poi ricevevano un challenge intravaginale con *C. albicans* nelle 24 ore successive alla vaccinazione adottiva. I linfociti adottivi trasferiti erano attivi in quest'ordine: CD4⁺ T linfociti ≥ CD5⁺ B linfociti ≥ CD8⁺ T linfociti.

È stata inoltre saggiata la loro capacità di proliferare dopo stimolazione con mitogeni quali PHA, PWD, LPS o mannanoproteina di *C. albicans*. I linfociti vaginali totali (CD3⁺ T linf., CD3⁺ CD4⁺ linf., e CD5⁺ B linf.) ottenuti da animali infetti, proliferano analogamente sia quando sono stimolati con i mitogeni classici che con la mannanoproteina specifica di *C. albicans*, mentre i CD3⁺CD8⁺ T linfociti hanno un minor grado di attivazione.

Infine, è stata saggiata la presenza di anticorpi anti-mannanoproteina di *C. albicans* nel supernatante di CD5⁺ B linfociti proliferati in presenza di T linfociti . I risultati dimostrano che è presente una cooperazione cellulare antiCandida a livello vaginale mediata da cellule e da anticorpi. Particolarmente importante è il ruolo svolto dalle cellule CD4⁺ T linfociti e dai CD5⁺ B linfociti.

G004

IDENTIFICAZIONE DI CANDIDA SPP. MEDIANTE SEQUENZIAMENTO CON ELETTROFORESI CAPILLARE

Bordi E., Paglia M.G., Nebuloso E., Pucillo L.P.

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

I metodi tradizionali per l'identificazione di *Candida spp.* includono l'esame al microscopio della morfologia del lievito

e l'allestimento di saggi biochimici per l'identificazione di specie. Sono stati sviluppati diversi sistemi in grado di identificare tali patogeni in poche ore, i quali però, pur consentendo una corretta identificazione delle specie più rilevanti clinicamente, possono risultare non conclusivi con ceppi di lieviti rari. I metodi basati sull'amplificazione del DNA ribosomale offrono una valida alternativa nella identificazione di specie, essendo i geni ribosomali costituiti da regioni conservate, identificabili con primer idonei, e frammenti di sequenze variabili utili per l'identificazione della specie.

Obiettivo. Effettuare una valutazione preliminare sull'utilizzo diagnostico di un sistema di sequenziamento automatico che consenta la diagnosi di specie di *Candida*, rispetto ai metodi tradizionali.

Materiali e Metodi. L'identificazione fenotipica dei lieviti isolati da materiali biologici (8 espettorati, 1 urina, 1 tampone faringeo), è stata eseguita con il sistema RapID Yeast Plus System (Remel). Per l'identificazione genotipica, il DNA estratto da colonie pure è stato amplificato, come descritto da Sandhu et al. (1). L'analisi delle sequenze nucleotidiche dei prodotti di amplificazione è stata eseguita, dopo purificazione, con "terminatori" marcati con sostanze fluorescenti mediante "Big Dye Terminator Sequencing kit v. 3.0" (Applied Biosystem), utilizzando lo strumento ABI-PRISM 3100. I dati relativi alle sequenze nucleotidiche sono stati confrontati con le sequenze depositate in banca dati.

Risultati. Il sistema RapID Yeast Plus System ha consentito di identificare: *C. krusei* (5/10), *C. paratropicalis* (1/10), *C. glabrata* (1/10), *C. parapsilosis* (1/10), *C. tropicalis* (2/10), mentre con il sequenziamento abbiamo ottenuto: *Saccharomyces spp* (4/10), *C. albicans* (1/10), *C. glabrata* (2/10), *C. tropicalis* (2/10) e una specie indeterminata.

Conclusioni. Il sequenziamento mediante elettroforesi capillare ha permesso di confermare la diagnosi fenotipica di *C. tropicalis*. Gli altri genotipi mostrano lievi differenze rispetto all'identificazione fenotipica e meritano ulteriori studi ed approfondimenti.

G005

CASO DI INFEZIONE RINO-FARINGEA INVASIVA DA MUCOR SPP.

Clerici P., Agrappi C., Vigano' E.F., Melloni P., Mazzone A*.

U.O. Microbiologia, * U.O. Oncologia Azienda Ospedaliera "Ospedale Civile di Legnano" Via Candiani 2-20025 Legnano (MI)

Introduzione Le zigomicosi sono le infezioni fungine acute a decorso più fulminante nei pazienti immunocompromessi. Sono causate da funghi appartenenti all'ordine Mucorales (*Mucor*, *Rhizomucor*, *Absidia*, *Rhizopus*). Più frequentemente colpiti sono il distretto cranio-rino-facciale ed il tessuto sottocutaneo. Il danno deriva dal particolare tropismo che questi funghi hanno per l'endotelio arterioso con infiltrazione dei vasi e conseguente necrosi tessutale.

Caso clinico Il presente caso si riferisce ad una paziente di 81 anni affetta dal novembre 2000 da mielodisplasia. A febbraio 2003 comparsa di stomatite aftosa ingravescente con disturbi nella deglutizione, dolore trafittivo laringo-faringeo e febbre. La paziente viene inizialmente messa in trattamento con Fluconazolo ma senza alcun miglioramento del quadro clinico. All'esame obiettivo si riscontra necrosi del palato duro con croste plurime siero ematiche nelle cavità nasali. La TAC evidenzia un ispessimento flogistico sottocutaneo a livello della regione temporo-zigomatica di sinistra. Si eseguono due tamponi nasali ed un tampone orofaringeo per l'e-

same microbiologico.

Esame microbiologico Già dopo 24 ore di incubazione su Sabouraud Dextrose Agar si osserva una crescita di colonie bianche lanuginose più rigogliosa sulla piastra incubata a temperatura ambiente. All'esame microscopico delle colonie con blu di lattofenolo si osservano sporangiofori ialini e lisci, assenza di rizoidi, sporangi globosi con columella ben evidente. Il fungo viene identificato come appartenente al genere *Mucor*.

Conclusioni Nonostante la tempestiva impostazione di terapia con Ambisone il quadro clinico evolve verso un sempre progressivo peggioramento fino all'exitus della paziente.

G006

INFEZIONE CUTANEA DA *CORYNEBACTERIUM AMYCOLATUM*.

De Santis A., *Mosca A., *Carucci A., Simone A., *Miragliotta G.

Laboratorio di Ricerche Chimico-Cliniche e Microbiologiche, Ospedale San Paolo, *Cattedra di Microbiologia, Dip. MIDIM, Università di Bari.

I corineformi risultano sempre più frequentemente correlati a diverse patologie umane, soprattutto nei pazienti immunodepressi.

Si riporta il caso di un uomo di 65 anni, in buona salute, immunocompetente, giunto al Laboratorio di Ricerche Chimico-Cliniche e Microbiologiche, Ospedale San Paolo, Bari, per valutazione microbiologica di una lesione cutanea produttiva persistente. La comparsa della lesione alla gamba sinistra risaliva a circa 3 anni prima, dopo intervento per subocclusione aortica a livello addominale, al quale era seguita prolungata depressione psichica. La lesione, inizialmente di tipo infiltrativo sottocutaneo, si era successivamente fistolizzata all'esterno, con formazione intorno all'ulcera di un'area infiammata ed edematosa con scarsa tendenza alla guarigione. Un primo esame microbiologico mise in evidenza *Mycobacterium xenopi*, pur senza alcun beneficio con relativa terapia specifica. Un ulteriore esame della lesione evidenziò presenza di elevata carica di bacilli difteroidi. Le colonie apparivano grigie e rugose, i batteri risultavano catalasi, ureasi e nitrato positivi, fermentanti. Il ceppo è stato identificato come *Corynebacterium amycolatum* utilizzando il sistema MIS-gas-cromatografia (Hewlett-Packard) che permette di identificare un microrganismo in base al profilo caratteristico degli acidi grassi. Il paziente è stato trattato con ciprofloxacina con miglioramento delle sue condizioni.

G007

CANDIDURIE: ANALISI DEI FATTORI DI RISCHIO, TERAPIA E EVOLUZIONE CLINICA. RISULTATI DI UNA INDAGINE NAZIONALE

Faggi E.¹, Farina C.², Lombardi G.³, Andreoni S.⁴, Manso E.⁵, Fazio P.⁶, Pini G.¹, Anichini P.⁷, Bonetti C.⁸, D'Accardo A.M.⁹, Fracchiolla S.¹⁰, Spinelli M.¹¹, Verna G.⁵

¹Dipartimento Sanità Pubblica - Università di Firenze,

²A.O. Ospedali Riuniti di Bergamo - Bergamo,

³Ospedale di Circolo - Varese,

⁴A.O. Ospedale Maggiore della Carità - Novara,

⁵A.O. Umberto I - Ancona,

⁶P.O. Ospedale Spirito Santo - Pescara,

⁷A.O. Careggi - Firenze,

⁸Ospedale Maggiore - Crema,

⁹Ospedale Cervello - Palermo,

¹⁰A.O. SS. Annunziata - Taranto, ¹¹A.O. Ospedale S. Anna - Como

I molti interrogativi posti dall'isolamento di lieviti dalle urine stimolò il Comitato di Studio per la Micologia (CoSM) dell'AMCLI a proporre, a livello nazionale, una indagine epidemiologica sulle candidurie allo scopo di indagarne l'eziologia, i fattori di rischio, l'approccio terapeutico e l'evoluzione clinica e micologica.

L'indagine, rivolta soprattutto a pazienti ricoverati in reparti di Terapia Intensiva, ha previsto la registrazione di dati epidemiologici relativa a ciascun caso clinico.

Hanno aderito all'iniziativa 10 centri ospedalieri (Bergamo, Como, Crema, Novara, Varese, Ancona, Firenze, Pescara, Palermo, Taranto) e l'indagine ha avuto la durata di 15 mesi (1 ottobre 2001 - 31 dicembre 2002).

Sono state raccolte complessivamente 68 schede relative a pazienti ricoverati in reparti di Terapia Intensiva (39), reparti chirurgici (6) e medici (23).

I fattori di rischio maggiormente presenti furono: catetere urinario (presente nel 93% dei pazienti), terapia antibiotica (88%), nutrizione parenterale (61%), insufficienza renale (42%), interventi chirurgici (42%). La candiduria era spesso associata a febbre (60% dei pazienti) e ad infezioni batteriche (63%). Nella maggior parte dei casi fu asintomatica ma il sedimento urinario presentava quasi costantemente leucociti e globuli rossi.

Il 30% dei pazienti presentava anche candidosi orofaringea e/o lieviti nell'escreato e il 7% delle donne candidosi vaginale. Candidemia fu riscontrata in 4 pazienti.

C. albicans fu la specie maggiormente isolata dalle urine (62%), seguita da *C. glabrata* (16%), *C. tropicalis* (7%); saltuariamente furono isolate altre specie.

C. albicans fu isolata dalle emocolture di tre pazienti, *C. glabrata* da un solo paziente: tali specie erano contemporaneamente presenti nelle urine ed in altri materiali patologici.

Al 53% dei pazienti fu somministrata una terapia antimicotica prevalentemente a base di fluconazolo. Gli altri pazienti non furono sottoposti a terapia antimicotica ma soltanto alla sostituzione del catetere urinario.

Oltre il 60% dei pazienti ebbe un miglioramento clinico che fu confermato, in molti casi, dalla risoluzione micologica dell'infezione.

G008

MICOSI SUPERFICIALI : CASISTICA PRESSO L'AMBULATORIO DI MICROBIOLOGIA - OSP. S. CHIARA DI TRENTO

Gaino M., Pedrotti C., Bassetti D., Caciagli P.

Microbiologia Immunologia - Ospedale S. Chiara TN

Obiettivi - Scopo dello studio è la valutazione della prevalenza di onicomicosi e dermatomicosi nei pazienti afferenti al laboratorio di Microbiologia per sottoporsi ad indagini micologiche, con particolare riguardo alla correlazione eziologica in rapporto alla sede di infezione.

Materiali e metodi - La compilazione di una scheda informativa del paziente, con particolare riferimento alla presenza di fattori di rischio ambientali-professionali per infezioni micotiche e all'assunzione di farmaci, unitamente alla descrizione particolareggiata della lesione, precede il prelievo di frammenti ungueali e di squame cutanee o da cuoio capelluto, eseguito dopo sgrassamento della cute o annessi con alcool al 70%. Il materiale così ottenuto viene inoculato in