

008

### IDENTIFICAZIONE DI *L. PNEUMOPHILA* DA CAMPIONI DI ACQUA MEDIANTE PCR-REAL TIME (HOME MADE)

Capicotto R., Quirino A., Lamberti A. G., Barreca G. S., Puccio R., Giacchetti A., Vinci M., Lo Russo T., Focà E., Matera G., Liberto M. C.

Cattedra di Microbiologia, Università "Magna Graecia" di Catanzaro

**Introduzione.** *L. pneumophila* è responsabile della legionellosi, una malattia infettiva che presenta differenti quadri clinici, quali la Malattia dei Legionari e la Febbre di Pontiac. Le infezioni da Legionella sono considerate un problema epidemiologicamente rilevante in Sanità Pubblica per la capacità di questo batterio di infiltrarsi nei sistemi di distribuzione dell'acqua; tutto ciò richiede un monitoraggio continuo soprattutto in ambienti comunitari, quali ospedali, alberghi ed altri tipi di strutture ricettive. Scopo del presente studio è stato quello di mettere a punto un test in PCR-real time e di compararlo al metodo colturale (che ad oggi rappresenta ancora il "gold standard") per l'identificazione di Legionella in campioni di acqua per uso domestico ed in ambienti comunitari.

**Metodi.** Sono stati analizzati 201 campioni di acqua provenienti da hotel, residence e ospedali presso l'U.O. di Microbiologia Clinica, Università degli Studi "Magna Graecia" di Catanzaro (Centro Regionale per la Diagnosi di Legionellosi per la Calabria), in un periodo compreso tra giugno 2005/dicembre 2005. Due tecniche di arricchimento del campione (filtrazione e centrifugazione) e due tecniche di estrazione del DNA (manuale ed in automatico) sono state comparate. Per valutare la presenza dei geni di Legionella genere-specifico (16S rRNA) e specie-specifico (*mip*) in PCR real-time, è stata utilizzata la colorazione SYBR Green in associazione allo strumento LightCycler (Roche Diagnostics, Italy).

**Risultati.** I risultati ottenuti dopo filtrazione del campione ed estrazione in automatico del DNA, mostravano un aumento della sensibilità del 3% rispetto al metodo colturale.

**Conclusioni.** L'associazione tra arricchimento per filtrazione, estrazione del DNA eseguita in automatico e PCR real-time costituisce una procedura ottimale che è in grado di fornire dati paragonabili a quelli ottenuti con il metodo colturale, riducendo i tempi di esecuzione e di refertazione.

009

### CONFRONTO TRA DUE METODICHE PER LA RILEVAZIONE DELLA FARMACO-RESISTENZA IN *M. TUBERCULOSIS* COMPLEX

Romano S., Bernassola M., Cava MC., Cappiello G., Longo R., Visca M., Bonanno C.L., Spanò A.

UOC Microbiologia, Virologia ed Immunologia Ospedale S. Pertini-Roma

**Introduzione.** La malattia tubercolare sta riemergendo nei paesi industrializzati per la diffusione dell'HIV, per l'immi-

grazione dai paesi in cui è endemica e per l'insorgenza di ceppi di *M. tuberculosis* (MTB) resistenti a uno o più farmaci primari utilizzati nella terapia (MDR-TB).

**Obiettivo.** Poiché la diagnosi precoce e l'identificazione dei ceppi resistenti sono fattori essenziali per il controllo della malattia, abbiamo confrontato il metodo usato nel nostro laboratorio (BACTEC MGIT 960 SIRE) con un metodo molecolare più rapido (Genotype-MTBDR).

**Metodi.** Il metodo molecolare rileva la resistenza di MTB alla rifampicina (RIF) e all'isoniazide (INH) associata rispettivamente ai geni *rpoB* e *katG*; in particolare il test evidenzia le mutazioni più frequenti in *rpoB* (D516V, H526Y/D, S531L) mentre per *katG* considera una sola mutazione amminoacidica codificata da due codoni diversi (S315T1, S315T2).

**Risultati.** Dal 01/07/2002 al 09/05/2006 sono stati isolati 44 MTB prevalentemente da secrezioni delle basse vie respiratorie.

Dal confronto è emerso che i risultati per INH concordano per l'89% (39/44). I 5 ceppi discordanti sono resistenti con il sistema BACTEC MGIT 960 SIRE solo ad una bassa concentrazione (0.1 µg/ml) e sensibili con il metodo molecolare.

Nel caso della RIF la concordanza è pari al 91% (40/44): il metodo MGIT rileva 1 caso di resistenza mentre il metodo molecolare 5.

**Conclusioni.** La resistenza alla RIF, emersa con il metodo molecolare, nei quattro casi discordanti è dedotta dall'assenza della forma wild-type di *rpoB* senza che nessuna delle mutazioni contemplate nel test venga evidenziata. Per l'INH il metodo molecolare indaga solo mutazioni nel gene *katG*, non considerando regioni, come *inhA* e *oxyR-ahpC*, frequentemente associate ad una resistenza a basse concentrazioni di farmaco.

L'analisi verrà approfondita attraverso il sequenziamento diretto dei geni *rpoB*, *katG*, *inhA* e *oxyR-ahpC*, per confermare o evidenziare nuove possibili mutazioni associate a resistenza.

010

### INFEZIONE POST CHIRURGICA DA MYCOBACTERIUM XENOPI: CASO CLINICO

Cava M.C.<sup>1</sup>, Cappiello G.<sup>1</sup>, Manetti G.<sup>2</sup>, Monteleone R.<sup>1</sup>, Visca M.<sup>1</sup>, Balducci L.<sup>1</sup>, Dastoli F.<sup>1</sup>, Spanò A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>U.O.C. Microbiologia, Virologia e Immunologia

<sup>2</sup>U.O.C. Chirurgia Oncologica

Ospedale "S. Pertini"-ASL RM B - Roma

**Introduzione.** *Mycobacterium xenopi* è un bacillo alcolico resistente scotocromogeno, frequentemente isolato da acque calde e fredde, incluse quelle degli ospedali. Generalmente è responsabile di infezioni polmonari simili alla tubercolosi e di infezioni anche generalizzate in soggetti immunodepressi.

**Caso clinico.** Paziente di 51 anni, maschio, sottoposto presso altre strutture a ripetuti interventi chirurgici per discopatia lombosacrale, nel maggio 2005 veniva sottoposto a intervento chirurgico per recidiva di ernia discale L4-L5, in un quadro di spondilodiscite. Esami microbiologici eseguiti in quella data risultavano negativi, ma circa 10 mesi dopo il paziente presentava di nuovo segni di recidiva. TAC e