

024

### ENDOFTALMITI ED ASCESSI OCULARI: COLTURA SU BACTEC 9000 IN CONFRONTO AI TERRENI TRADIZIONALI

Giardini F.<sup>1</sup>, Bay A.<sup>2</sup>, Vana M.<sup>1</sup>, Pollino C.<sup>1</sup><sup>1</sup>Laboratorio Analisi ASL I Ospedale Oftalmico Torino<sup>2</sup>Divisione Glaucomi ASL I Ospedale Oftalmico Torino

**Introduzione.** La massiccia terapia antibiotica locale, in pazienti affetti da infezioni oculari a prognosi severa, ha prodotto, nella nostra esperienza di anni, deludenti risultati dell'esame colturale. Il sistema Bactec, che prevede l'utilizzo di flaconi Ped Plus a basso volume di inoculo con resine attive nella neutralizzazione degli antibiotici presenti nel campione, è stato adattato alle nostre procedure di laboratorio per campioni oculari.

**Metodi.** Il nostro studio prende in esame 64 casi di infezioni oculari a prognosi severa, verificatisi nell'arco di 14 mesi, così ripartiti: 43 endoftalmiti (sia post-traumatiche che post-chirurgiche), 21 ascessi oculari.

50% dei campioni costituita da umor vitreo o acqueo, di 0.1-0.3 ml di volume, trasportati in laboratorio con il sistema Port-A-Cul; la restante parte costituita da tamponi Transport-Cult prelevati sulle lesioni oculari.

I materiali sono stati seminati ed incubati su:

- 1) Terreni solidi - agar cioccolato, agar sangue, incubati in aerobiosi a 37°C fino a 72 ore, agar cioccolato e baci-tracina, incubato in capnofilia fino a 72 ore.
- 2) Terreni liquidi - brodo cuore cervello 9ml, flaconi Hemoline difasico, incubati a 37°C in aerobiosi fino a 7 giorni.
- 3) Flaconi Bactec Ped Plus incubati a 35°C nel sistema Bactec 9050 con protocollo 7 giorni.

In caso di crescita nei terreni solidi e liquidi, i germi isolati sono stati identificati con il sistema API.

**Risultati.** Dei 64 campioni da endoftalmiti ed ascessi oculari, 42 sono risultati positivi alla coltura su Bactec; di questi, solo 14 campioni sono risultati positivi anche alla coltura con Hemoline, nessuno solo su Hemoline. Il brodo cuore cervello ha dato crescita in soli 11 casi, sempre confermati da Hemoline e Bactec positivi. I terreni solidi hanno dato crescita in soli 9 casi, sempre confermati da Hemoline e Bactec positivi.

Il tempo medio di positizzazione per i flaconi Bactec è stato di 16.5 ore, mentre quello degli altri terreni è stato di 36 ore.

**Conclusioni.** Il significativo aumento di positività rispetto alla coltura tradizionale, realizzato attraverso l'adozione del Sistema Bactec 9000, ha permesso di migliorare notevolmente in sensibilità e in rapidità la diagnosi delle infezioni oculari a prognosi severa.

025

### SIFILIDE CONNATALE: DIAGNOSI DI LABORATORIO

Grisolia V., Roscetto E., Scognamiglio R., Del Pezzo M.A., Di Costanzo P.\*, Piccoli S., Avagliano G., Rossano F.

Area Funzionale di Diagnostica Microbiologica -

A. O. U. Federico II

\*Terapia Intensiva Neonatale - A. O. U. Federico II

La sifilide, malattia a prevalente trasmissione sessuale, ha fatto registrare recentemente un significativo aumento di nuovi casi, soprattutto in donne in età fertile (+ 59% dal 1986 al 1989) con conseguente aumento di forme congenite.

Dal gennaio 2005 a tutt'oggi, abbiamo esaminato complessivamente 140 sieri di pazienti, 48 dei quali di neonati con sospetto di sifilide. Dei 48 sieri testati per sierologia treponemica, 19 sono risultati positivi (alti titoli di RPR e TPHA, presenza di immunoglobuline specifiche di classe IgG).

Alla nascita, nessuno dei 19 neonati sieropositivi mostrava segni clinici di sifilide: prematurità, basso peso alla nascita, epatomegalia con o senza splenomegalia, rash cutaneo vescicolare, pseudoparalisi, distress respiratorio, emorragia, febbre; mancavano lesioni bilaterali e simmetriche delle ossa lunghe (femore e omero), rilevabili radiograficamente, considerate patognomoniche per la sifilide. Tutti i 19 neonati al momento del ricovero, venivano sottoposti a terapia con diaminocillina 1.200.000 U.I. i.m./ settimana per tre settimane e monitorati periodicamente per i parametri sierologici treponemici: ogni mese per tre mesi, dopo sei mesi e dopo un anno. A negativizzazione delle IgG specifiche e a riduzione di almeno 4 volte dei titoli di TPHA e RPR, 6 bambini sono stati dichiarati non infetti da sifilide. L'aumento del titolo delle IgG specifiche e la permanenza dei valori di TPHA e RPR ha consentito di porre diagnosi di infezione per 2 bambini, i quali sono stati sottoposti a terapia specifica e monitorati per il follow-up terapeutico. È ancora in corso il monitoraggio sierologico per i rimanenti 11 bambini.

In conclusione i test sierologici antitreponemici risultano efficaci sia ai fini della diagnosi, sia per il follow-up terapeutico fino a negativizzazione della sierologia treponemica e comunque per non meno di 12-18 mesi, lì dove la diagnosi non può essere supportata da parametri clinici di certezza.

026

### ANALISI GENICA DI CEPPI DI MRSA: CONFRONTO TRA POLIMORFISMO DEL GENE *spa* E PFGE

Grossato A.<sup>1</sup>, Bettanello S.<sup>2</sup>, Boldrin C.<sup>1</sup><sup>1</sup>Dipartimento Istol.-Microbiol.-Biotec. med., Università di Padova;<sup>2</sup>Laboratorio di Microbiologia, Azienda Ospedaliera di Padova

**Introduzione.** La diffusione dell'antibiotico-resistenza tra *S.aureus* rende problematico il trattamento delle infezioni stafilococciche. In Italia l'isolamento di *S. aureus* meticillino-resistenti (MRSA) ha superato la percentuale del 40% sul totale degli isolati. Il monitoraggio e la limitazione della diffusione di MRSA in ambito sia ospedaliero che extra-ospedaliero richiedono sistemi di tipizzazione rapida ma attual-

mente per MRSA il “gold standard” della caratterizzazione è rappresentato dalla PFGE, una tecnica complessa e di non rapida esecuzione. In questo studio abbiamo confrontato i risultati di tipizzazione con PFGE con l’analisi del polimorfismo del gene *spa*. Tale gene, codificante per la proteina A di superficie, possiede una regione polimorfica X formata da un numero variabile di *repeats* di 24 bp.

**Metodi.** 80 ceppi di MRSA, isolati all’Ospedale di Padova, furono identificati tradizionalmente e con API ID32 staph. I profili di antibiotico-resistenza furono tracciati utilizzando Vitek -2. Saggi di PCR furono allestiti per evidenziare il gene *mecA* e per la tipizzazione del polimorfismo del gene *spa* (seguita da determinazione delle dimensioni degli ampliconi). I profili di PFGE furono ottenuti, dopo digestione con *Sma I*, alle seguenti condizioni: 6 V/cm, 22 ore, 14°C, tempi di switch 5-35s, angolo 120°.

**Risultati.** Tutti i ceppi MRSA da noi esaminati erano *mecA* positivi e multiresistenti. Tra gli 11 antibiotipi osservati quello predominante (resistente a beta-lattamici, eritromicina, gentamicina, tetraciclina, chinoloni, rifampicina) comprendeva il 55% degli isolati. Dall’analisi della regione X del gene *spa* si individuavano 9 tipi di ampliconi, con dimensioni variabili da 226 a 418 bp. Il tipo con amplicone di 418 bp comprendeva il maggior numero di ceppi simili o correlati, in base all’analisi eseguita mediante PFGE.

**Conclusioni.** L’esame del polimorfismo degli ampliconi del gene *spa* appare utile come *screening* preliminare di ceppi di MRSA potenzialmente correlati, che devono essere poi esaminati mediante PFGE, a scopo epidemiologico.

## 027

### PRESENZA DI *CHLAMYDOPHILA PNEUMONIAE* IN PLACCHE ATEROSCLEROTICHE MEDIANTE REAL TIME PCR

Grosso S.<sup>1</sup>; Lucini V.<sup>1</sup>; Pannacci M.<sup>1</sup>; Malandrin S.<sup>2</sup>; Scaglione F.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Università degli Studi di Milano, Dipartimento di Farmacologia, Chemioterapia e Tossicologia Medica, Via Vanvitelli 32, 20129 Milano.

<sup>2</sup>Laboratorio di Microbiologia, Ospedale Fatebenefratelli e Oftalmico, 20121 Milano.

**Introduzione.** Recenti studi suggeriscono che diversi microrganismi gram negativi, tra cui *Chlamydomphila pneumoniae* potrebbero essere implicati nello sviluppo e nella progressione dell’aterosclerosi. In questo studio abbiamo valutato la presenza del microrganismo intracellulare, in placche aterosclerotiche provenienti da aorta umana.

Inoltre, ipotizzando un possibile coinvolgimento nell’infezione da *C. pneumoniae* delle integrine, molecole di adesione implicate nell’aterogenesi e nel reclutamento delle cellule infiammatorie, abbiamo valutato l’eventuale colocalizzazione tra questo batterio e l’integrina  $\alpha_5\beta_1$ .

**Metodi.** Placche aterosclerotiche sono ottenute da 10 individui sierologicamente positivi a *C. pneumoniae* e di età compresa tra 43 e 76 anni sottoposti ad intervento per aneurisma. La presenza del microrganismo nei campioni prelevati è stata valutata sia mediante immunofluorescenza indiretta sia mediante estrazione del DNA e Real Time PCR.

Inoltre, la localizzazione di *C. pneumoniae* e di  $\alpha_5\beta_1$  nelle

placche aterosclerotiche, è stata determinata con una tripla immunofluorescenza diretta.

**Risultati.** L’immunofluorescenza sulle sezioni di placche aterosclerotiche analizzate ha rilevato la presenza di *C. pneumoniae* in otto dei dieci pazienti arruolati mentre due benché sierologicamente positivi non hanno evidenziato, a livello della placca, il microrganismo. I dati ottenuti con la Real time PCR hanno confermato la presenza del patogeno.

L’immunofluorescenza tripla ha dimostrato come la presenza di *C. pneumoniae*, nelle placche aterosclerotiche analizzate sia evidente in cellule infiammatorie quali macrofagi e/o monociti che sulla loro superficie esprimono l’integrina  $\alpha_5\beta_1$ . Inoltre, le immagini ottenute al microscopio confocale hanno rilevato un “merging” tra  $\alpha_5\beta_1$  ed il microrganismo.

**Conclusioni.** I dati ottenuti hanno confermato la presenza di *C. pneumoniae* nelle placche aterosclerotiche, e dimostrato come il patogeno si localizzi preferenzialmente a livello delle cellule macrofagiche. Inoltre, la colocalizzazione di  $\alpha_5\beta_1$  con *C. pneumoniae*, osservata nelle placche analizzate avvalorava l’ipotesi che questa integrina possa essere coinvolta nello sviluppo e nella persistenza dell’infezione da *C. pneumoniae* favorendo così l’instaurarsi di patologie croniche come l’aterosclerosi.

## 028

### CASO DI SEPSI DA *MORAXELLA CATARRHALIS*

Gualdi P., Collini L., Schinella M.,\* Mucci G.

Laboratorio Patologia Clinica;

\* U.O. Pediatria, Ospedale S. Maria del Carmine

- Ple S. Maria, 6, 38068 Rovereto (TN)

**Introduzione.** *Moraxella catarrhalis* è un cocco gram-negativo, commensale del cavo orale che a lungo è stato ritenuto dotato di scarso potere patogeno e che ora si sta affermando quale patogeno emergente nelle infezioni dell’albero respiratorio accanto a *S.pneumoniae* e *H.influenzae*, in particolare nei soggetti con broncopatia cronica ostruttiva (BPCO).

Raramente causa infezioni invasive e nei bambini più spesso è agente eziologico di sinusiti e otite media.

**Caso Clinico.** Si riferisce il caso di un bambino di due anni giunto in Pronto Soccorso e successivamente trasferito presso l’Unità Operativa di Pediatria del nostro Ospedale con iperpiressia dal giorno precedente, cefalea e vomito.

In presenza di esami di laboratorio alterati; globuli bianchi  $15.3 \times 10^9$  L, proteina C reattiva (PCR) 118.5 mg/L, VES 98 mm/h, e di focolaio basale alla radiografia toracica, per il sospetto clinico di infezione batterica, viene eseguito un prelievo per emocoltura.

Dopo l’esecuzione dell’emocoltura viene eseguita terapia con ceftriaxone in infusione venosa, con rapida risoluzione della sintomatologia e ripristino dei parametri di laboratorio.

**Materiali e metodi.** L’emocoltura si è positivizzata dopo circa 18 ore di incubazione a 37°C; al vetrino eseguito dal flacone sono stati evidenziati diplococchi Gram negativi e la ricerca di antigeni batterici è risultata negativa per *Neisseria meningitidis*. Dalle sottocolture eseguite in agar sangue e agar cioccolato, incubate in microaerofilia al 5% di CO<sub>2</sub> per 24 ore sono state isolate colonie piccole a “goccia di rugiada”, semitraslucide e ossidasi positiva.

La colorazione di Gram evidenziava diplococchi Gram negativi e l’identificazione biochimica, eseguita con gallerie Api-NH (bioMerieux), è risultata essere *M. catarrhalis*.