
P015

**INDAGINE CONOSCITIVA INTERREGIONALE
SULLA RICERCA COLTURALE DI
CAMPYLOBACTER SPP.**

Bernieri F.¹, Merlino L.¹, Agnello M.¹, Buratta A.¹,
Borsotti M.², Quercioli M.³, Rossetti R.³, Crotti D.⁴

¹U.O. Qualità e Appropriatazza dei Servizi Sanitari,
Direzione Generale Sanità, Regione Lombardia.

²Centro Regionale di Riferimento per il Controllo della Qualità in
Laboratorio, A.O. Careggi, Firenze.

³Laboratorio di Microbiologia P.O. di Pistoia.

⁴Sezione di Microbiologia e Parassitologia Clinica,
Ospedale "R. Silvestrini", Perugia.

Nei Paesi sviluppati *Campylobacter* spp. è tra i più frequenti microrganismi patogeni intestinali. Numerosi studi indicano che in Italia la sua prevalenza è sovrapponibile a quella di *Salmonella* spp.; nonostante ciò quest'ultima spesso è più spesso isolata nei comuni laboratori diagnostici. Questo, presumibilmente, per due motivi; il primo è che molti laboratori non ricercano di routine *Campylobacter* nelle feci malgrado che tale ricerca sia esplicitamente indicata alla voce "Coprocultura" nei nomenclatori tariffari sia nazionale sia regionali; il secondo è che la coltura di questo microrganismo, tecnicamente, risulta un poco più complessa di quella di *Salmonella*.

Nell'ambito dei rispettivi programmi di Valutazione Esterna della Qualità (VEQ) in Microbiologia sia la Regione Lombardia, sia il Centro Regionale di Riferimento per il Controllo della Qualità Toscana hanno più volte inviato ai laboratori iscritti dei campioni fecali simulati contenenti un ceppo di *Campylobacter jejuni/coli*. Spesso le risposte fornite sono risultate poco soddisfacenti, nei casi migliori solo circa l'80% dei laboratori ha risposto correttamente. Per cercare di evidenziare le cause di un numero così elevato di fallimenti si è ritenuto di inviare un ceppo noto di *Campylobacter jejuni* e contestualmente richiedere ai laboratori notizie circa le tecniche colturali adottate.

Tra la fine di marzo e gli inizi di aprile 2004 a circa 480 laboratori delle regioni Lombardia, Toscana, Umbria, Marche, Abruzzo e Basilicata è stato inviato il ceppo, liofilizzato, *Campylobacter jejuni* ATCC 33291. Si è richiesto di effettuare la coltura, fornire il risultato della medesima e di indicare, su un apposito questionario, le metodiche colturali (tipo di terreni di prima semina, eventuali arricchimenti, modalità di incubazione), le metodiche di identificazione (test utilizzati, eventuali kit diagnostici) e le metodiche di saggio della sensibilità ai chemioantibiotici (metodica utilizzata, antibiotici saggiati). Vengono esposti e commentati i risultati.

P016

**CAMPYLOBACTER: BIOTIPI PREVALENTI ED
ANTIBIOTICO-RESISTENZE.**

Bonanno C.L., De Sandro M.V., La Marca A.*, Spanò A.,
Lanciano A.L.

Servizio di Microbiologia-Ospedale "S. Pertini"- Roma
*BIOS S.p.A.

La *Campylobacteriosi* come altre infezioni enteriche è sottoposta già da tempo a studi di sorveglianza epidemiologica (Programma CAMPYG-AMCLI): conoscere la diffusione

del *Campylobacter* nel nostro Paese oltre che monitorare la sua antibiotico resistenza ha importanti risvolti sia in campo preventivo che terapeutico. Considerata l'attuale e crescente resistenza di questi microrganismi verso antibiotici fino ad oggi normalmente utilizzati in terapia, si è voluta saggiare la sensibilità agli antibiotici di ceppi di *Campylobacter*, di isolamento umano, pervenuti dal Gennaio 2001 al Luglio 2003 presso il nostro Laboratorio, quale Centro di Riferimento del *Campylobacter* per la Regione Lazio.

Materiali e metodi: durante il periodo in esame sono stati raccolti ed esaminati 80 ceppi di *Campylobacter* provenienti da campioni fecali di pazienti prevalentemente in età pediatrica. Tali ceppi sono stati tipizzati e antibiogrammati previa crescita di questi su terreno selettivo Campy BAP(BD). La biotipizzazione è stata effettuata seguendo la tecnica di Lior; la sensibilità agli antibiotici invece è stata testata con metodo di diffusione K.B. su agar M.H. al 5% di sangue di montone.

Risultati: Il *C. jejuni* è risultato prevalente rispetto al *C. coli*, essendo stato isolato nel 77.5% dei casi, mentre il *C. coli* nel 22%, confermando la prevalenza già accertata a livello nazionale. La distribuzione dei biotipi evidenzia una maggiore diffusione del biotipo I nel *C. jejuni* (% 62.9) così come nel *C. coli* (%72.2); il *C. jejuni* biotipo II è stato isolato nel 33.9 % dei casi, il *C. coli* biotipo II nel 27.8 % , il *C. jejuni* biotipo III invece solo nel 3.2%. Per quanto riguarda la antibiotico resistenza il *Campylobacter* ha dimostrato bassi valori di resistenza verso i macrolidi (eritromicina): *C. jejuni/coli* 7.5%, in particolare 3.2% per il *C. jejuni* e 22.2% per il *C. coli*. La resistenza invece verso i chinoloni (acido nalidixico e ciprofloxacina) si conferma elevata anche nella nostra indagine sia nel *C. jejuni* (33.8% per NA e 37% per CIP) che nel *C. coli* (55.5% per NA e CIP). Nei confronti di tetraciclina, infine, in generale il *Campylobacter* ha mostrato una discreta sensibilità: per *C. jejuni/coli* è 30% con valori superiori per *C. coli* (44.4%) rispetto al *C. jejuni* (25.8%), così come altri dati in letteratura riportano.

Conclusioni: I risultati ottenuti sono concordi con quelli riportati da altri autori: *C. jejuni*, biotipo I, è l'agente eziologico predominante delle gastroenteriti da *Campylobacter*. Inoltre i test di sensibilità mostrano tetracicline e soprattutto macrolidi (E) come molecole privilegiate nella terapia antibiotica. Dalla nostra indagine la resistenza ai chinoloni (CIP) rimane alta nel periodo considerato anche se si assiste ad un leggero decremento nell'anno 2002.

P017

**TIPIZZAZIONE MOLECOLARE DI CEPPI DI
VRE MEDIANTE SISTEMA AUTOMATIZZATO
RIBOPRINTER® E PFGE:
CONFRONTO TRA LE METODICHE**

Bonfitto M.G.; Catalano A.; Frisicale L.; Piana F.; Fossati L.;
Marchiaro G.

SC Microbiologia ASO San Giovanni Battista c.so Bramante 88 -
10126 Torino

Introduzione. Gli enterococchi resistenti ai glicopeptidi (VRE) rappresentano un problema emergente a livello di sanità pubblica non soltanto perché associati a fenomeni di multiresistenza che, rendendo inefficaci quasi tutte le terapie antibiotiche a disposizione, aumentano morbilità e mortalità dei pazienti colpiti, ma anche perché è dimostrato sperimentalmente che i geni della resistenza alla vancomicina possono essere trasferiti ad altre specie microbiche, in particolare a *S. aureus*, con gravi conseguenze.

La Pulsed Field Gel Electrophoresis è considerata la tecnica "gold standard" per la tipizzazione dei VRE, essa, però, presenta lo svantaggio di avere lunghi tempi di esecuzione (circa una settimana).

Il sistema automatizzato Riboprinter® è stato sviluppato per la ribotipizzazione batterica ed è in grado di effettuare analisi automatiche in Southern blot. Esso fornisce risultati in una giornata lavorativa con un impegno del personale di circa un paio d'ore.

Scopo del lavoro. Lo scopo di questo lavoro è stato quello di valutare la riproducibilità del sistema RiboPrinter® per la tipizzazione automatizzata dei VRE e di confrontarne i risultati con quelli ottenuti utilizzando il sistema di tipizzazione manuale PFGE.

Materiali e metodi. A tale scopo sono stati tipizzati sia con la PFGE che con il sistema RiboPrinter® 41 ceppi di *Enterococcus faecium* vancomicina resistenti fenotipo VanA isolati da vari materiali clinici provenienti da 41 pazienti diversi, inviati presso il laboratorio di Microbiologia Clinica dell'A.S.O. S. Giovanni Battista di Torino e identificati mediante sistema Microscan ed Api Strep.

La tipizzazione in PFGE è stata eseguita mediante l'utilizzo dell'enzima *SmaI* e seguendo il protocollo descritto altrove, mentre il sistema RiboPrinter® l'enzima *EcoRI*.

L'analisi dei patterns è stata effettuata mediante il software Bionumerics 2.5 per la rivelazione dei clusters.

Risultati. La riproducibilità dei metodi è stata valutata ripetendo gli esperimenti su 10 ceppi ed entrambi i metodi hanno riconfermato i profili evidenziati dalla precedente seduta analitica.

La PFGE ha individuato 24 diversi pulsotipi aventi un numero di bande compreso tra 10 e 14. Sono stati trovati 6 clusters (con indice di similarità del 100% cioè in raggruppamenti costituiti da profili identici): 1 da 7, 1 da 6 ceppi, 1 da 4, 3 costituiti da 2 ceppi. L'indice di clusterizzazione è risultato essere 57.5%.

Il sistema RiboPrinter®, invece, ha individuato 3 profili diversi: il 114-S-1, presente in 32 ceppi, il 25-S-1 con 7 ceppi ed il 202-S-5 con 1 solo ceppo. L'indice di clusterizzazione è risultato essere 97.5%.

Confrontando i risultati ottenuti con le due metodiche, si è notato che è necessaria una differenza tra i ceppi di almeno il 20% affinché il sistema automatico possa identificarli come diversi.

Entrambi i metodi hanno identificato un ceppo come *Enterococcus gallinarum*, permettendo di correggere l'identificazione errata da parte dei metodi tradizionali.

Conclusioni. Il sistema automatizzato RiboPrinter® è inficiato da un elevato indice di clusterizzazione (97,5% vs 57,5%), ha però il vantaggio di fornire risultati in breve tempo (una giornata lavorativa vs una settimana) e con minore impegno da parte dell'operatore.

Confrontando con un proprio database il profilo ottenuto dalla tipizzazione di un ceppo, inoltre, può dare rapidamente una identificazione di genere e specie con maggiore affidabilità rispetto ai metodi di identificazione tradizionali.

BIBLIOGRAFIA.

1. Kuriyama T, et Al. (J Med Microbiol. 2003 Sep;52(Pt 9):821-7). Molecular characterization of clinical and environmental isolates of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* from a teaching hospital in Wales.
2. Price CS et Al. (J Clin Microbiol. 2002 May;40(5):1858-61). Comparison of an automated ribotyping system to restriction endonuclease analysis and pulsed-field gel electrophoresis for differentiating vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* isolates.

P018

LE LINFOADENOPATIE INFETTIVE: NOSTRA ESPERIENZA

Sanlorenzo M.*; Caldera D.*; Lasagna C.*; Bruno R.*; Pecarrere J.L.**

* A.S.L. 7 Chivasso (To)

° Equipe Sanitaria Ospedale di Sakalalina (Madagascar)

*** Istituto "Pasteur" di Antananarivo (Madagascar)

Introduzione: Le linfadenopatie di origine infettiva rappresentano un importante problema clinico in ambiente tropicale, in considerazione anche delle difficoltà diagnostiche per mancanza di strumentazione idonea.

Vogliamo presentare la nostra esperienza in questo campo analizzando retrospettivamente i dati raccolti presso l'Ospedale di Sakalalina (Madagascar) nel periodo 1991-1992.

Materialie metodi: Nel periodo considerato presso la struttura ospedaliera sono state effettuate in 36 pazienti biopsie di linfonodi per definire meglio le patologie o i sospetti diagnostici. La sede di prelievo è stata in 21 casi a livello delle stazioni linfonodali del mesocolon trasverso, in 9 casi a livello latero-cervicale, in 6 casi a livello inguinale.

Il materiale raccolto veniva sottoposto ad esame microscopico sia a fresco sia dopo colorazione di Gram e Ziehl-Neelsen per evidenziare la eventuale presenza di microrganismi patogeni; inoltre veniva fissato con liquido di Bouin per il successivo esame istologico.

Risultati: La ricerca è stata positiva in 13 casi (36%).

In cinque pazienti l'esame istologico ha evidenziato un'adenite tubercolare follicolare e caseofollicolare: in tutti questi casi però la ricerca di BAAR è risultata sempre negativa.

Altri cinque soggetti hanno presentato una linfadenite cronica con presenza di numerose uova di *Schistosoma mansoni* (bilarziosi linfonodale).

In due soggetti è stata riscontrata a livello dei linfonodi la presenza di *Wuchereria bancrofti*.

Infine un paziente ha presentato un quadro di micosi linfonodale con l'evidenziazione di formazioni a "grani" di origine actinomicotica.

Conclusioni: Nella nostra esperienza è stato riscontrato un elevato numero di soggetti positivi per una linfadenite infettiva (13/36 pazienti). Vi sono difficoltà oggettive nella diagnostica, che richiede la presenza di un attrezzato laboratorio analisi e di un servizio di anatomia patologica, il che difficilmente è a disposizione in strutture situate in paesi tropicali. Ciò fa ritenere che tali patologie siano ancora sottostimate. L'elevato numero di soggetti con adenite tubercolare o con bilarziosi linfonodale correla bene con la diffusione di questi agenti patogeni in Madagascar e in particolare nella regione di Sakalalina, dove la prevalenza di *Schistosoma mansoni* supera il 75% nella popolazione.

P019

PROTOCOLLO PER LA PREVENZIONE DELL'INFEZIONE NEONATALE DA STREPTOCOCCO BETA-EMOLITICO DI GRUPPO B (SGB)

Busetti M., Antonucci G., Macorini D., Serra P.

UCO Igiene e Medicina Preventiva, Università degli Studi di Trieste, IRCCS "Burlo Garofolo", Trieste

Introduzione: l'infezione da Streptococco beta-emolitico di