

tore di emolisi su agar sangue. Precedentemente inserito nel genere *Corynebacterium*, è stato successivamente riclassificato in un nuovo genere; mostra tuttavia alcune somiglianze con gli actinomiceti e batteri "corineformi". È solitamente isolato da pazienti con faringiti ed infezioni cutanee, raramente causa sepsi, infezioni del sistema nervoso centrale ed endocarditi.

Caso clinico Si riferisce il caso di una donna di 55 anni che a maggio 2003, per un Ca del retto, è stata sottoposta a resezione anteriore bassa del retto, isterectomia totale, annessiectomia sinistra e metastasectomia epatica sinistra. Portatrice di ano pre-ter e di catetere vescicale fino a ottobre 2003. Inizia subito dopo l'intervento cicli di chemioterapia che continua tuttora. A novembre la paziente lamenta perdite vaginali cremose giallastre e maleodoranti con fish odor curate con metronidazolo. Scomparsa del fish odor ma permanenza della leucorrea cremosa. Vengono eseguiti pertanto esame colturale del fluor vaginale, ricerca micoplasmi urogenitali e Chlamydia. Dopo l'esito viene instaurata terapia con Bactrim che non sortisce effetto e successivamente ripetuto il tampone vaginale. Alla risposta del secondo campione viene iniziata terapia con clindamicina.

Materiali e metodi Entrambi i campioni di essudato vaginale, prelevati a distanza di 10 giorni, sono stati seminati su piastre di agar Columbia CNA incubate in anaerobiosi e su piastre con terreni selettivi per miceti, stafilococchi, Enterobacteriaceae ed enterococchi. Dopo 24 ore di incubazione a 37°C sono state isolate su agar sangue piccole colonie emolitiche, catalasi negative e negative alla tipizzazione per streptococchi β -emolitici. La colorazione di Gram ha evidenziato bacilli pleiomorfi Gram positivi e l'identificazione eseguita con gallerie Api Coryne (bioMerieux) è stata di *Arcanobacterium haemolyticum*. L'antibiogramma eseguito su Mueller Hinton agar + sangue di montone con E-test ha dato risultati di sensibilità a cefotaxime, clindamicina, vancomicina e resistenza al trimetoprim-sulfametoxazolo.

Conclusioni Sebbene *Arcanobacterium haemolyticum* venga prevalentemente isolato da pazienti con faringiti ed infezioni cutanee, nel caso da noi esposto, visto l'isolamento in più campioni in fluor vaginale, è ipotizzabile un suo ruolo come patogeno opportunisto in pazienti oncologici, come del resto già riportato in letteratura.

P060

UN SAGGIO DI "REAL-TIME PCR (TaqMan)" PER LA DIAGNOSI DI LABORATORIO DI LEPTOSPIROSI

Calderaro A., Incaprera, M., Piccolo, G., Arcangeletti M.C., Medici M.C., Dettori G., Chezzi C.

Dipartimento di Patologia e Medicina di Laboratorio, Sezione di Microbiologia, Università degli Studi di Parma, viale Gramsci 14, 43100 Parma.

Allo scopo di superare gli svantaggi dei metodi convenzionali di riferimento per la diagnosi di laboratorio di leptospirosi (esame colturale e saggio di microagglutinazione) è stato introdotto nel nostro laboratorio un saggio di nested-PCR che si è rivelato sensibile e specifico per *Leptospira* spp. ma non in grado di differenziare leptospire patogene da quelle saprofiti. A questo scopo, un recente saggio "Real-time PCR" per la rivelazione delle sole leptospire patogene è stato sottoposto a valutazione nel nostro laboratorio. La sua specificità è stata valutata su colture pure di leptospire saprofiti e di leptospire patogene. La sensibilità è stata valutata su campioni simulati di sangue addizionati di *L. interrogans*

Australis bratislava Riccio-2. Le sospensioni di leptospire così ottenute sono state sottoposte a diluizioni seriali e analizzate mediante saggio "Real-time PCR" che prevede l'amplificazione di una sequenza interna al 16S rDNA e rivelazione della fluorescenza condotte in "ABI Prism 7000 sequence detector" (Applied Biosystem).

Nel nostro laboratorio, il saggio "Real-time PCR" è stato ottimizzato attraverso la definizione delle condizioni sperimentali (concentrazione dei "primers" e della sonda, e il numero di cicli di PCR) e ha mostrato una buona sensibilità per *L. interrogans* (CT 27,82) (Std Dev. CT 0,139). Rispetto al saggio nested-PCR, questo procedimento realizzato in un unico tubo garantisce una maggiore sicurezza contro eventuali contaminazioni, ha un tempo di esecuzione rapido (2 ore rispetto a 7-8 ore per il saggio nested-PCR), è specifico per le specie patogene e, attualmente, sufficientemente sensibile e semiautomatizzato.

P061

EPIDEMIA DI PSEUDOMONAS AERUGINOSA MULTIRESISTENTI, PRODUTTORI DI METALLO B-LATTAMASI IMP-13, IN UNA UNITÀ DI TERAPIA INTENSIVA DELL'IRCCS "CASA SOLLIEVO DELLA SOFFERENZA" DI SAN GIOVANNI ROTONDO (FG)

M. Labonia¹, M. Li Bergoli¹, R. Migliavacca², C. Colinon, J.-D. Docquier³, M. Spalla⁴, E. Nucleo², G. M. Rossolini³, L. Pagani²

¹Lab. di Microbiologia - IRCCS "Casa Sollievo della Sofferenza S. Giovanni Rotondo, (FG),

²Dipartimento di Microbiologia, Università di Pavia,

³Dipartimento di Biologia Molecolare, Università di Siena,

⁴Lab. di Microbiologia - IRCCS S. Matteo Pavia.

Scopo: In questo lavoro si descrive un epidemia dovuta a *P. aeruginosa* produttrice di una MBL di tipo IMP (IMP-13) in una UTI dell'IRCCS "Casa Sollievo della Sofferenza di San Giovanni Rotondo (FG).

Metodi: 27 isolati di *P. aeruginosa*, non duplicati, resistenti ai carbapenemi, furono raccolti da 27 pazienti ricoverati in una UTI dell'Ospedale di S. Giovanni Rotondo (Italia meridionale) nel periodo Ottobre 2002 - Giugno 2003. La maggior parte degli isolati (25/27) proveniva dell'apparato respiratorio inferiore. I test di sensibilità *in vitro* furono eseguiti con il metodo delle microdiluizioni, come raccomandato dal NCCLS. L'E-test e il metodo di microdiluizione in brodo (EPI test) furono usati per la rilevazione fenotipica dei produttori di MBL. Per identificare i determinanti delle MBL furono eseguiti esperimenti di PCR e di sequenziamento. Per valutare le relazioni clonali fra gli isolati clinici imipenem-resistenti, fu eseguita la Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE), usando l'enzima di restrizione *SpeI*.

Risultati: L'EPI test dimostrava che 6 isolati di *P. aeruginosa* resistenti ai carbapenemi producevano un'attività MBL, mentre l'E-test non identificava nessuno di questi isolati. In tutti i casi, la MBL fu identificata come IMP-13 mediante metodi molecolari. I produttori di IMP-13 erano resistenti all'imipenem (MIC > 32 µg/ml) e al meropenem (MIC > 16 µg/ml), ma alcuni conservavano la sensibilità alla piperacillina/tazobactam (3/6) e una sensibilità intermedia all'aztreonam (5/6). L'analisi con PFGE mostrava che i ceppi erano correlati clonalmente suggerendo una diffusione clonale nell'ambito del Reparto. Tutti gli isolati erano resistenti all'imipenem, MIC > 16, ma non al meropenem, con MIC che variavano da 2 a > 16, e sensibili alla piperacillina e pipe-

racillina/tazobactam. L'analisi PFGE mostrava che altri due ceppi clonalmente non correlati erano presenti nello stesso Reparto.

Conclusioni: Per quanto ci risulta, questa è la prima segnalazione di una epidemia nosocomiale causata da *P. aeruginosa* produttrice di MBL IMP-13. Circa la rilevazione fenotipica delle MBL, l'EPI test potrebbe correttamente rilevare tutti i produttori di IMP-13, mentre l'E-test falliva nella loro rivelazione.

P062

PATOGENI EMERGENTI IN PAZIENTI CON FIBROSI CISTICA: RISULTATI DI UNO STUDIO DI SORVEGLIANZA EPIDEMIOLOGICA.

Lambiase A., Lavitola A., Raia V. (1), Del Pezzo M., Sarpi O., Sepe A. (1), Rossano F.

Dipartimento di Biologia e Patologia Cellulare e Molecolare "L. Califano", Università di Napoli "Federico II"
(1) Dipartimento di Pediatria, Università di Napoli "Federico II"

L'infezione polmonare cronica rappresenta la principale causa di decesso in pazienti con Fibrosi Cistica (FC). Durante la prima decade di vita, i patogeni comunemente isolati sono *Staphylococcus aureus* ed *Haemophilus influenzae*, mentre *Pseudomonas aeruginosa* rappresenta il patogeno più frequente nell'adolescenza.

Recentemente sono stati isolati nuovi patogeni, *Stenotrophomonas maltophilia* (SM), *Alcaligenes xylosoxidans* (AX) e *Burkholderia cepacia* (BC) (1).

Scopo dello studio è stato determinare la frequenza di isolamenti colturali e la prevalenza di colonizzazione di tali patogeni nei pazienti FC del Centro di Riferimento Campano.

Nel triennio 2000-2003 da 300 pazienti, in regolare follow-up, sono stati raccolti almeno 4 campioni di espettorato o aspirato bronchiale/anno. Su 3986 campioni (3348 espettorati, 638 aspirati bronchiali) sono stati effettuati:

- esami microscopici e colturali;
- saggi di identificazione;
- studio di chemiosensibilità *in vitro* sia per diffusione che per microdiluzione.

La frequenza di isolamenti è stata del 6.6% (265 isolati) per SM, 3.8% (155 isolati) per AX e 11% (444 isolati) per BC, con aumento sia per SM che per AX di anno in anno (per SM: 3% nel 2000, 5.6% nel 2001, 7.4% nel 2002, 9.9% nel 2003; per AX: 2.1% nel 2000, 2.5% nel 2001, 4.9% nel 2002, 5.5% nel 2003); per BC la frequenza è stata del 12% nel 2000-01, 10% e 9.4% rispettivamente nel 2002 e 2003, verosimilmente per il miglioramento delle strategie di isolamento dei pazienti. 85 pazienti (28%) risultano colonizzati da SM, 49 (16%) da AX e 42 (14%) da BC.

In conclusione, l'espansione dell'eziologia microbica è prevalentemente correlata alle modificazioni della terapia antibiotica. La prevalenza di questi organismi è in parte sovrapponibile a quella del Nord-America (2), pur sotto diverse influenze ambientali. Non è ancora noto il ruolo di questi patogeni emergenti sul decorso clinico.

P063

ASSOCIAZIONE TRA COLONIZZAZIONE NEONATALE DA UREAPLASMA UREALYTICUM E BASSO PESO ALLA NASCITA

M.A. Latino*, G. De Intinis*, P. Intorcchia*, M. Peretto*, L. Bello**, G. Prandi***

*S.S.Dip. Bacteriologia Az. Osp. O.I.R.M. - Sant'Anna, Torino
** Dipartimento di Discipline Ginecologiche e Ostetriche, Cattedra "B", Università di Torino.
*** Dip. Scienze Pediatriche e dell'Adolescenza - Università di Torino

Introduzione: La colonizzazione cervico-vaginale in donne gravide da parte di *Ureaplasma urealyticum* è stata associata alla nascita di neonati con basso peso sebbene *U. urealyticum* faccia parte della flora commensale delle vie genitali femminili. Il meccanismo d'azione sarebbe da mettere in relazione con l'instaurarsi di un processo infiammatorio a livello della placenta che interferirebbe con l'apporto di sostanze nutritive al feto, determinandone l'iposviluppo. Diversi studi hanno dimostrato che esiste una correlazione tra le infezioni del sistema respiratorio da parte di *U. urealyticum* e lo sviluppo di patologie polmonari neonatali.

Obiettivi: Lo scopo di questo lavoro è quello di valutare la colonizzazione da parte di *U. urealyticum* in neonati pretermine con basso peso alla nascita (<1.500 gr.) rispetto ad un gruppo di neonati a termine e con peso ³. 2.500 gr.

Si è cercato di evidenziare, nella nostra popolazione, eventuali correlazioni fra la presenza di questo microrganismo e complicanze ostetriche e neonatali quali la rottura prematura delle membrane, il parto pretermine e l'insorgenza di una patologia respiratoria neonatale.

Metodi: Sono stati studiati complessivamente 262 neonati di cui 194 nati pretermine con peso, alla nascita, <1500gr, e 68 nati a termine con peso³. 2.500 gr. considerati come gruppo di controllo.

Su tutti sono stati eseguiti un tampone auricolare ed un tampone faringeo per valutare la colonizzazione da parte di *U.urealyticum*. I prelievi per l'esame colturale sui neonati sono stati effettuati in sala parto alla nascita. Sono stati inoltre raccolti i dati clinici relativi ai neonati esaminati e alle rispettive madri (età gestazionale, peso del neonato, rottura prematura delle membrane, tipo di parto, problemi respiratori del neonato etc.).

U. urealyticum è stato ricercato utilizzando il metodo di coltura il terreno liquido Mycofast Evolution 2 (International Microbio) considerando positive colture con conta batterica superiore a 10³ U.C.C.(unità cambianti colore).

Risultati: Una colonizzazione da parte di *U. urealyticum* è stata evidenziata in 30 (15.5%) dei neonati con basso peso alla nascita e solo in un (1.5%) neonato a termine con peso ³. 2.500 gr. (p < 0.025).

Significativo sembra essere il tipo di parto, infatti una colonizzazione interessava 10 neonati su 24 (41.7%) nati con parto spontaneo e 18 (12%) dei 150 nati con taglio cesareo (p <0.001). In 20 casi il tipo di parto non è stato determinato.

Una rottura prematura delle membrane (PROM) si è verificata in 60 casi con colonizzazione in 21 (35%) vs i 9 (6.7%) dei 164 casi in cui tale complicanza ostetrica non si è manifestata (p <0.001). Più in particolare nel 70% (21/30) dei neonati colonizzati (gruppo A) si era verificata una PROM e solo nel 23.8% (9/164 p < 0.001) di quelli non colonizzati (gruppo B).

Per quanto riguarda l'insorgenza di patologie respiratorie il nostro studio ha messo in evidenza un maggior ricorso alla respirazione artificiale nei neonati del gruppo A. Infatti, i