

P071

EFFETTO DI ESTRATTI DI PIANTE AROMATICHE SU DI UN BATTERIOFAGO DI PSEUDOMONAS AERUGINOSA

*Fabio A., ** Nicoletti P ***Martino A.

*Arcispedale S. Maria Nuova, Reggio Emilia

**Ospedale Careggi, Firenze

***Dipartimento di Scienze Igienistiche, Microbiologiche, Biostatistiche, Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia

Nell'ambito di una indagine sulle proprietà antibatteriche, antimicotiche ed antivirali di piante e derivati, abbiamo studiato l'effetto degli oli essenziali di chiodi di garofano, lavanda, origano e rosmarino su ceppi di *Pseudomonas aeruginosa* isolati da campioni clinici. E' noto che ceppi di *Pseudomonas aeruginosa* possono essere parassitati da numerosi tipi di batteriofagi. La loro presenza viene in genere evidenziata dalla presenza di aree di lisi prodotte sui batteri durante la fase di crescita. Nelle indagini preliminari sono stati selezionati ceppi di *Pseudomonas aeruginosa* isolati da casi clinici; alcuni (10%) presentavano evidenti aree litiche su piastre di terreno di isolamento dopo osservazione di alcuni giorni. I ceppi selezionati, seminati su piastre di Agar Sangue e di Mueller Hinton, sono stati messi in contatto con dischetti di carta bibula imbevuti degli oli in esame in concentrazione commerciale. Sono stati allestiti controlli positivi e negativi. Le piastre sono state mantenute a temperatura ambiente per alcuni giorni. Attorno agli aloni di inibizione della crescita (assenti nel caso della lavanda, di 12 e 13 mm per origano e rosmarino, 16 per i chiodi di garofano) per diametri di circa 40 per lavanda e rosmarino, di 55 per origano e di 60 per i chiodi di garofano, si è verificata l'assenza di aree di lisi peraltro presenti nelle rimanenti parti delle piastre. I risultati del tutto preliminari consentono di ipotizzare non tanto una possibile interferenza della sostanza sul ciclo litico di un determinato fago, quanto il fatto che il fago perda la capacità di agire su una cellula batterica modificata che potrebbe non essere più attaccabile dal fago.

P072

UNA DIAGNOSI PRECOCE DI INFEZIONE DA BORRELIA BURGENDORFERI

Nisticò S., Potente G.I., Leone R.A., Minchella P., Folino C., Berardelli G.*, Quintieri F.*, Griffo G.*, Callipari E.*, Citrinetti A.*, Petronio A.*, Luciano A.

U.O. di Microbiologia e Virologia, *U.O. di Malattie Infettive, AS n. 6 Lamezia Terme

Scopo: Valutare l'utilità della precoce diagnosi sierologica nel sospetto di *Borreliosi*, malattia endemica trasmessa da zecche della specie *ricinus*, parassiti di numerosi mammiferi, sia domestici che selvatici. Dopo la puntura dell'artropode, gli agenti infettanti (genere *Borrelia*) possono moltiplicarsi nei linfonodi regionali (adenopatia) e/o diffondere per via ematica e localizzarsi in vari organi. Clinicamente l'infezione può manifestarsi attraverso la cosiddetta *malattia di Lyme* (eritema migrante, artralgie, neuropatia) oppure attra-

verso la *febbre ricorrente* di tipo epidemico, presente soprattutto in aree geografiche dove le condizioni igieniche e sociali sono ancora oggi molto scadenti.

Materiali e metodi: Nel mese di maggio 2003 è giunta alla nostra osservazione, inviata dal Pronto Soccorso, una donna di 52 anni alla quale era stata rimossa una zecca. La paziente non mostrava segni e sintomi di particolare interesse tuttavia, a scopo profilattico, è stata proposta una terapia con doxiciclina 200mg/die per 21 giorni. Gli esami ematochimici eseguiti al momento del ricovero mostravano una modesta monocitosi con lieve aumento della VES.

La diagnostica sierologica è stata effettuata eseguendo prima la ricerca di anticorpi anti-*Borrelia* di classe IgG ed IgM con metodica immunoenzimatica (EIA) della ditta MIKROGEN (distribuita da DiaSorin), che utilizza antigeni ricombinanti di *Borrelia burgdorferi* e, successivamente, un test di secondo livello con metodica western blot (*Borrelia burgdorferi* WB AID GmbH, distribuito da AMPLIMEDICAL).

Risultati: Il test EIA è risultato **positivo** per la ricerca di IgM e **dubbio** per la ricerca di IgG; il test WB ha confermato la fase acuta di malattia, evidenziando la presenza di anticorpi di classe IgM per la banda aspecifica p41 (flagellina) e per le "bande altamente specifiche" della fase acuta p25 (osp C) e p34 (osp B).

Discussione e conclusioni: Riteniamo opportuno dover ricercare gli anticorpi anti-*borrelia* in tutti quei pazienti che riferiscono all'anamnesi una puntura di zecca, anche se asintomatici; infatti lo stadio iniziale dell'infezione non si accompagna ad alcuna sintomatologia. Tale procedura diagnostica è da noi applicata al fine di porre una diagnosi precoce di infezione e predisporre così un immediato trattamento terapeutico atto ad evitare l'instaurarsi di malattia.

P073

UN CASO CLINICO DI RICKETTSIOSI DEL GRUPPO FEBBRE MACULOSA

Nisticò S., Potente G.I., Leone R.A., Minchella P., Folino C., Quintieri F.*, Berardelli G.*, Lucchino D.*, Surace L.A.*, Petronio A.*, Luciano A.

U.O. di Microbiologia e Virologia,

*U.O. di Malattie Infettive, AS n. 6 Lamezia Terme

Scopo: Valutazione diagnostica di un caso clinico di Rickettsiosi. Le specie del genere *Rickettsia* sostengono infezioni con varia sintomatologia; quasi sempre tuttavia è presente esantema con localizzazione variabile ed un'escara nella sede della puntura dell'artropode vettore. Il serbatoio naturale delle Rickettsie è costituito da numerosi mammiferi, in particolare piccoli roditori selvatici; l'uomo è solo un ospite occasionale.

Materiali e metodi: Nel mese di settembre 2002 è giunta alla nostra osservazione una donna di 77 anni ricoverata per febbre di natura da determinare. Al momento dell'ammissione la paziente, residente in una zona rurale del circondario, presentava ipertensione con brividi e sudorazione profusa, artromialgia e cefalea; tali sintomi erano presenti da oltre una settimana. All'esame obiettivo si riscontrava un esantema maculo-papuloso diffuso ed un'escara in corrispondenza della regione del fianco sinistro. Nella stessa sede, circa una settimana prima dell'insorgenza della sintomatologia, era stata avvertita una puntura non ben identificata. Gli esami ematochimici eseguiti al momento del ricovero mostravano leucocitosi con aumento dei granulociti neutrofili, monocitosi, linfopenia ed un considerevole aumento della VES. Il sospetto diagnostico di Rickettsiosi è stato confermato con la ricerca su siero di anticorpi anti-Rickettsie di classe IgG ed

IgM, eseguendo un test basato su tecnica di immunofluorescenza (Focus USA, distribuito da ALIFAX), che utilizza su unico pozzetto antigeni distinti di *R. typhi* e di *R. rickettsii*, permettendo una differenziazione tra anticorpi anti-*Rickettsia* gruppo febbre tifoide ed anticorpi anti-*Rickettsia* gruppo febbre maculosa. Il test di sieroaagglutinazione Weil-Felix da noi utilizzato è prodotto dalla Ditta Murex.

Risultati: Il campione in esame ha rivelato una positività per la ricerca di IgG anti-*Rickettsia* gruppo febbre maculosa maggiore di 1:256 e di IgM maggiore di 1:50. La sieroaagglutinazione di Weil-Felix, all'inizio negativa, si è positività con titolo 1:160 per l'antigene OX2, soltanto una settimana dopo.

Discussione e conclusioni: Riteniamo, alla luce di quanto riportato, che nei pazienti con anamnesi positiva per puntura di insetto e che manifestino febbre e/o rash cutaneo, la sola esecuzione della sierodiagnosi di Weil-Felix non sia sufficiente. E' quindi importante, al fine di una precoce diagnosi etiologica, utilizzare un test che abbia non solo tempi di esecuzione brevi, ma che sia più sensibile e specifico; la metodica in immunofluorescenza possiede queste caratteristiche e, non richiedendo strumentazione dedicata se non un microscopio a fluorescenza, può essere utilizzata in tutti i laboratori di microbiologia.

P074

RESISTENZA MEDIATA DA METALLO-BETA-LATTAMASI IN *P.AERUGINOSA* IN UNA STRUTTURA RIABILITATIVA.

^aMigliavacca R., ^bNavarra A., ^cTelecco S., ^dNucleo E., ^eSpalla M., ^fAsticcioli S., ^gZara F., ^hPagani L.

^aDip. S.M.E.C. sez. di Microbiologia, Università di Pavia, via Brambilla 74, 27100 Pavia;

^bLab. di Microbiologia IRCCS "Fondazione S. Maugeri" via Ferrata 8, 27100 Pavia;

^cServizio Analisi Microbiologiche IRCCS "S. Matteo", p.le Golgi, 27100 Pavia.

Obiettivi - Monitorare la diffusione della resistenza ai carbapenemici, mediata da metallo-β-lattamasi, in ceppi di *P.aeruginosa* isolati in una struttura riabilitativa che accoglie pazienti provenienti da ospedali distribuiti sul territorio nazionale.

Metodologia - In 81 isolati di *P.aeruginosa*, raccolti nel periodo giugno '02-dicembre '03, resistenti all'imipenem, è stata determinata la MIC con micrometodo in terreno liquido secondo i protocolli NCCLS. Su tutti i ceppi è stata valutata l'azione sinergica tra imipenem ed EDTA mediante E-test MBL (AB-Biodisk) e tra imipenem ed EDTA + 1,10-o-fenantrolina utilizzando un test di microdiluzione in terreno liquido (EPI-test). I determinanti di resistenza sono stati individuati con PCR mediante primer specifici per i geni *bla_{VIM}* e *bla_{IMP}* e successivo RFLP del prodotto di amplificazione. Ai fini della tipizzazione è stata effettuata un'analisi dei profili di macrorestrizione genomica (PFGE).

Risultati - I ceppi risultati resistenti all'imipenem in base alla diffusione da dischetto erano caratterizzati da MIC di 8->256 µg/ml. La restituzione dell'attività dell'imipenem, dovuta alla azione di EDTA + 1,10-o-fenantrolina, si è verificata in 15 isolati (18.5%) di *P.aeruginosa*, nei quali è stata dimostrata la produzione di metallo-β-lattamasi di tipo VIM, mentre 66 ceppi con MIC comprese fra 4-256 µg/ml sono risultati negativi a questo test. In tutti i casi l'EPI-test ha evidenziato la produzione di metallo-enzima, mentre in 5 casi l'E-test è risultato negativo. Le MIC per l'imipenem dei ceppi metallo-enzima-produttori erano comprese tra 8 e >256µg/ml. 7 stipti produttori di VIM-1 sono risultati epi-

demiologicamente correlati, mentre è stata evidenziata la diffusione di 3 altri pulsotipi solo sporadicamente presenti.

Conclusioni - L'utilizzo di test di sinergia con inibitori per il riconoscimento delle metallo β-lattamasi è di facile applicazione nei laboratori diagnostici, ed auspicabile, vista l'incidenza dei casi di resistenza dovuta alla persistenza e diffusione di diversi cloni metallo-β-lattamasi produttori nella nostra area geografica.

P075

RESISTENZA MEDIATA DA BETA-LATTAMASI IN ISOLATI CLINICI DI *ACINETOBACTER BAUMANNII* MDR.

^aMigliavacca R., ^bNavarra A., ^cEndimiani A., ^dNucleo E., ^eSpalla M., ^fTelecco S., ^gLi Bergoli M., ^hGiacobone E., ⁱLuzzaro F., ^jRossolini G.M., ^kPagani L.

^aDipartimento S.M.E.C. sez. di Microbiologia, Università di Pavia, via Brambilla 74, 27100 Pavia;

^bLab. di Microbiologia - IRCCS "S. Maugeri" via Ferrata 8, 27100 Pavia;

^cLab. di Microbiologia - Ospedale di Circolo e Fond. "Macchi", viale Borri 57, 21100 Varese;

^dServizio Analisi Microbiologiche IRCCS "S. Matteo", p.le Golgi, 27100 Pavia;

^eLab. di Microbiologia - IRCCS "Casa Sollievo della Sofferenza", 71013 S. Giovanni Rotondo (FG);

^fDipartimento di Biologia Molecolare, Università di Siena, viale Bracci, 53100 Siena.

Obiettivi: Studio delle β-lattamasi prodotte da isolati clinici di *Acinetobacter baumannii* multiresistenti (MDR) responsabili di infezioni nosocomiali e delle loro relazioni clonali.

Metodologia: 38 ceppi di *A. baumannii* isolati nel 2003 in 4 ospedali da reparti di TI, clinici, chirurgici e riabilitativi, e caratterizzati da un profilo di multiresistenza, sono stati studiati per la produzione di β-lattamasi. Gli isolati erano ottenuti in gran parte da urine (26.3%) e secrezioni delle vie respiratorie (39.5%), ma anche da sangue (15.8%) e materiali diversi (18.4 %). Tutti gli isolati sono stati identificati e saggiati per la sensibilità agli antibiotici con card GNI (Vitek System, BioMerièux) e pannelli NMIC/ID4 (Phoenix System, Becton Dickinson). Le β-lattamasi ottenute in estratti grezzi sono state caratterizzate mediante determinazione del pI e dell'attività idrolitica sui substrati. La presenza dei geni *bla_{TEM}*, *bla_{SHV}*, *bla_{OXA}*, *bla_{VEB}*, *bla_{PER}*, *bla_{CTX-M}* e *amp C* è stata studiata mediante PCR. Le relazioni clonali fra gli isolati sono state valutate mediante elettroforesi in campo pulsato (PFGE) usando l'enzima di restrizione *Sma*I.

Risultati: 32 ceppi sono risultati produttori di β-lattamasi AmpC cromosomiche ad elevati livelli, mentre 6 ceppi producevano β-lattamasi a spettro esteso (ESBL). I ceppi produttori di ESBL sono risultati non correlati clonalmente tra di loro, mentre gli stipti iperproduttori di AmpC cromosomica, isolati in Ospedali diversi, appartenevano prevalentemente ad un unico clone. In un reparto sub-intensivo *A. baumannii* MDR iperproduttore di AmpC ha dato origine ad un episodio epidemico.

Conclusioni: I risultati ottenuti dimostrano la circolazione in ambito ospedaliero di stipti di *A. baumannii* MDR spesso non correlati genotipicamente e caratterizzati da differenti meccanismi di resistenza agli antibiotici β-lattamici. A questo riguardo, l'iperproduzione di β-lattamasi di tipo AmpC sembra essere il meccanismo prevalente ma anche l'espressione di ESBL può determinare fenotipi multiresistenti di difficile trattamento.