

con NALC-NaOH, in parallelo con il test DTB secondo le istruzioni d'uso.

Le colture dei campioni risultati negativi al test DTB sono state sottoposte a LiPA Mycobacteria (Innogenetics) per l'identificazione dei MOTT.

Risultati Dei 132 (128 escreti) campioni respiratori, 93 (71 positivi allo striscio) sono risultati positivi per *M. tuberculosis* complex (MTC) all'esame colturale; 88/93 (95.7%) campioni erano DTB positivi. Il DTB ha identificato MTC in 67/68 (98.5%) campioni con striscio e coltura positiva e in 22/25 (88%) campioni con striscio negativo e coltura positiva. Dei 33 campioni con coltura negativa, 28 (84.8%) sono risultati DTB negativi. 6/132 campioni, risultati successivamente positivi per MOTT all'esame colturale, erano DTB negativi. Solo 1 dei 132 campioni con coltura MTC-positiva risultava inibito al test. La sensibilità del test DTB su campioni respiratori è stata del 95.7%, la specificità del 84.8%, la likelihood ratio (LR) positiva di 6.32, LR negativa di 0.05.

Conclusioni Il test DTB offre un approccio rapido ed attendibile per la ricerca diretta di MTC da campioni respiratori, in aggiunta all'esame colturale.

P119

INFEZIONE DA CLADOPHIALOPHORA CARRIONII IN MADAGASCAR : ESPERIENZA PRELIMINARE.

Bruno R.*; Sanlorenzo M.*; Lasagna C.*; Cucchi L.*; Caldera D.*; Crema F.*; Defilippi S.*; Grosjean P.***; Rajeamirimoelisoa C.***

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

° Equipe Sanitaria Ospedale "S. Croix" Isoanala (Madagascar)

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

Introduzione: *Cladophialophora carrionii* è responsabile di cromoblastomicosi ed è endemica in Madagascar, in particolare nel sud dell'isola.

Materiali e metodi: Da maggio a settembre 2003 presso l'ospedale St. Croix di Isoanala (sud Madagascar) 4 pazienti (tre uomini e una donna, età media 41,5 anni, range 31-54) con lesioni cutanee sospette per cromoblastomicosi sono stati sottoposti a:

- esame microscopico diretto di squame cutanee per ricercare i corpi sclerotici tipici della malattia
- prelievo biotico multiplo (tre frammenti) per esame istopatologico mirante alla definitiva diagnosi
- esame colturale con identificazione del micete responsabile dell'infezione.

L'esame microscopico diretto e la semina su Sabouraud + cloramfenicol + gentamicina sono eseguiti a Isoanala, i successivi accertamenti diagnostici sono effettuati presso l'Institut Pasteur de Madagascar a Antananarivo.

Risultati: In tutti i 4 casi sono stati evidenziati, nei prelievi biotici, i caratteristici corpi sclerotici; l'esame colturale ha dato esito dubbio in un caso, ma in 3 soggetti ha portato all'isolamento di *Cladophialophora carrionii*.

Tutti i pazienti sono stati sottoposti a terapia sistemica con terbinafina: 250 mg x2/die per due mesi e 250 mg/die per ulteriori sei mesi.

Durante il trattamento un monitoraggio mensile dei più significativi parametri ematochimici non ha evidenziato alterazioni, né si è verificata intolleranza farmacologica.

Nelle 3 forme verrucose-granuleggianti si è avuta una notevole regressione delle lesioni con completa guarigione clinica in 2 pazienti. Nella forma nodulare si è avuta una riduzione volumetrica delle lesioni senza guarigione completa,

per cui si è deciso di prolungare la terapia.

Conclusioni: La terbinafina ha dato ottimi risultati con nessun effetto collaterale; in mancanza di protocolli standard internazionali, occorre attentamente valutare la durata del trattamento in base all'estensione e alla forma clinica della malattia.

P120

"CASE REPORT" DI INFEZIONE DA NOCARDIA ASTEROIDES

Cava M.C.¹, Trequattrini T.², Cappiello G.¹, Magnanti M.¹, Malgrande A.¹, Fumagalli G.², Rivitti R.², Spanò A.¹

¹Struttura Complessa di Microbiologia e Virologia -

²Struttura Complessa di Pneumologia Clinica

Ospedale "Sandro Pertini", ASL Roma B

La nocardiosi polmonare è un evento poco frequente, spesso non riconosciuto sia a livello clinico che microbiologico. Trattasi generalmente di una infezione opportunistica, ma può essere riscontrata anche in pazienti immunocompetenti. Dal giugno 2002 a dicembre 2003 nell'ambito della diagnostica di laboratorio delle micobatteriosi polmonari con il sistema fluorimetrico MGIT sono stati identificati Actinomiceti aerobi debolmente acido resistenti in 11 pazienti, pari a 1.8% dei soggetti esaminati. Solo in due pazienti, afferenti al Day-Hospital di Pneumologia, è stato possibile correlare il riscontro microbiologico alla sintomatologia clinica: un caso con patologia ostruttiva negativo radiologicamente ma con tosse ed escreato purulento persistente, l'altro caso con infiltrato polmonare sottoclavareo.

Gli escreti (almeno tre per paziente) inoculati, dopo opportuno procedimento di decontaminazione, in terreno liquido fluorimetrico MGIT (Mycobacteria Growth Indicator Tube) e processati dal sistema automatico BACTEC MGIT 960, sono risultati positivi per Actinomiceti aerobi debolmente acido resistenti (colorazione di Ziehl-Nielsen modificata). La subcoltura in terreno agarizzato al 5% di sangue di montone ha mostrato tipiche colonie stellate, tenacemente adese al terreno e dal caratteristico odore.

Tutti i campioni di escreato esaminati relativi ai due pazienti hanno confermato l'infezione ed in un caso l'esame batterioscopico ha evidenziato la presenza di batteri ramificati debolmente acido resistenti.

Dopo terapia antibiotica specifica le colture sono risultate negative e la sintomatologia clinica è regredita.

P121

RILEVAMENTO DI SNP NEL CODONE 464 DEL GENE ERG11 IN CANDIDA ALBICANS, MEDIANTE PYROSEQUENCING

^aOrrù G., ^aCiusa M.L., ^aPuscaddu G., ^aMontaldo C., ^bCasentino S., ^bPisano B., ^cMeroni E., ^aPiras V., ^bFadda M.E.

^aO.B.L. (Oral Biotechnology Laboratory) Dipartimento di Scienze Odontostomatologiche Università degli Studi di Cagliari.

^bDipartimento di Biologia Sperimentale, Sezione di Igiene Università degli Studi di Cagliari.

^cBIOSENSE S.r.l. Cinisello Balsamo - MI

Gli antifungini azolici rappresentano un'importante classe di farmaci utilizzati nelle infezioni da *C. albicans*, mutazioni

presenti lungo il gene *ERG11*, che codifica per una citocromo P450 monossigenasi, coinvolta nella sintesi dell'ergosterolo, sono state associate all'azolo-resistenza.

In questo lavoro è stata utilizzata la tecnica Pyrosequencing™ per stabilire se esistano differenze in un frammento del gene *ERG11* tra ceppi ketoconazolo-sensibili e ketoconazolo-resistenti di *C. albicans*.

Sono stati analizzati 48 ceppi isolati dalla mucosa orale di soggetti affetti da candidiasi oro-faringea. La sensibilità al ketoconazolo è stata determinata con la tecnica delle microdiluzioni in piastra secondo le direttive del NCCLS. 15 ceppi sono risultati SDD (Sensibilità Dose Dipendente) o resistenti al ketoconazolo con valori di MIC compresi tra 0,25 e >16 µg/ml. Dopo amplificazione tramite PCR con un primer biotinilato di un frammento del gene *ERG11* (dal codone 464 al 483), è stata eseguita la separazione del singolo filamento con un metodo a base di sfere ricoperte con streptavidina. Il sequenziamento ha richiesto sistema e procedure della Pyrosequencing (Pyrosequencing AB Uppsala, Sweden). Durante la reazione di sequenza per ogni base nucleotidica incorporata viene emessa radiazione luminosa grazie ad un sistema enzimatico contenente luciferina, il metodo utilizzato è in grado di eseguire 96 esami/5 ore.

Tra gli isolati clinici di *C. albicans* sono state rilevate mutazioni a carico del codone Gly464Ser (4 ceppi), questi dati sono in accordo con quanto descritto in letteratura. La metodica utilizzata può rappresentare un sistema efficace per l'esecuzione dell'antibiogramma molecolare nella diagnosi di laboratorio di infezione per *C. albicans*.

Ringraziamenti: Dott. Carlo Farachi (BIOSENSE S.r.l.)
Dott. Roberto Usai (DEPECO S.r.l.)

P122

FUNGURIE NEI PAZIENTI OSPEDALIZZATI: INDAGINE RETROSPETTIVA MULTICENTRICA

Faggi E.¹, Farina C.², Lombardi G.³, Andreoni S.⁴, Manso E.⁵, Fazzii P.⁶, Nicoletti P.⁷, Pini G.¹, Brigante G.³, Verna G.⁵

¹Dipartimento Sanità Pubblica - Università di Firenze,

²A.O. Ospedali Riuniti di Bergamo - Bergamo,

³Ospedale di Circolo e Università dell'Insubria - Varese,

⁴A.O. Ospedale Maggiore della Carità - Novara,

⁵A.O. Umberto I - Ancona,

⁶P.O. Ospedale Spirito Santo - Pescara,

⁷A.O. Careggi - Firenze

In seguito alle numerose segnalazioni dell'aumento, in ambiente ospedaliero, delle infezioni micotiche delle vie urinarie è stata fatta un'indagine multicentrica retrospettiva sull'incidenza delle fungurie in sei centri ospedalieri italiani (Bergamo, Novara, Varese, Firenze, Ancona, Pescara). L'indagine riguarda il periodo gennaio 2001 - dicembre 2002 ed ha avuto lo scopo di precisare la frequenza di isolamento di miceti nelle urinocolture, la distribuzione delle fungurie in base ai reparti, gli agenti eziologici e l'incidenza di fungemie in pazienti con funguria.

Sono stati isolati microrganismi (batteri o funghi) nel 21% delle urinocolture (oltre 100.000 colture): il 2% delle colture risultarono positive per miceti, mentre il 19% per batteri. Miceti furono isolati nell'8% delle urinocolture positive.

Le fungurie sono state osservate soprattutto nei reparti di terapia intensiva (24% delle urinocolture positive), meno frequentemente invece nei reparti chirurgici e medici.

Candida albicans è la specie maggiormente isolata (63% degli stipti), seguita da *C. glabrata* (18%), *C. tropicalis*

(9%), *C. parapsilosis* (3%); saltuariamente sono state isolate altre specie di *Candida* e rari stipti di *Trichosporon asahii* (3) e *Saccharomyces cerevisiae* (1); non sono mai stati ritrovati funghi miceliali.

Le urinocolture positive per lieviti provenivano da pazienti con età media di 66 anni e di sesso prevalentemente femminile.

Il 5% dei pazienti con funguria presentò fungemia. La specie isolata dal sangue fu la stessa di quella isolata dalle urine nel 75% dei pazienti; nel 25% furono isolate specie differenti. Le candidemie associate a candidurie si osservarono soprattutto nei reparti chirurgici.

C. albicans fu la specie maggiormente isolata da pazienti con fungemia e funguria, seguita da *C. glabrata*, *C. tropicalis* e *C. parapsilosis*.

P123

ASPERGILLOSI INVASIVA IN PAZIENTE SOTTOPOSTA A TRAPIANTO DI MIDOLLO OSSEO ALLOGENICO.

Farris A.G.* , Caddeu R.* , Podda G.S.* , Vacca A**.,

* Laboratorio Analisi Ospedale "R. Binaghi",

Via Is Guadazzonis 14, 09100 Cagliari

** Centro Trapianti Midollo Osseo P.O. "R. Binaghi",

Via Is Guadazzonis 14, 09100 Cagliari

Introduzione. A decorrere dagli anni '70 l'incidenza dell'aspergillosi invasiva è andata progressivamente aumentando. L'inhalazione di spore di *Aspergillus* (muffe ubiquitarie) può risultare molto comune, ma la malattia è relativamente rara. L'inhalazione di aria contenente spore di *Aspergillus* (il 90% è rappresentato da *A. fumigatus*) è una delle cause principali delle infezioni polmonari nei pazienti immunocompromessi o neutropenici (leucemici, trapiantati d'organo, ..). Nonostante l'introduzione di nuovi ed efficaci farmaci antimicotici, l'aspergillosi invasiva ha molto spesso esito fatale (mortalità del 50 - 100 % dei casi).

Per questo motivo le misure preventive rivestono un ruolo di importanza primaria nel controllo di questa patologia e richiedono una piena conoscenza dell'epidemiologia di questa malattia.

Caso clinico. Viene riportato un caso clinico che è esemplificativo della multifattorialità presente nell'insorgenza e condizionante il decorso dell'aspergillosi invasiva.

Una donna di 35 aa. affetta da Sindrome Mielo Displasica viene sottoposta in data 07/07/2003 a trapianto di midollo osseo allogenico da donatore familiare HLA-identico. Il trapianto ha esito positivo con attecchimento allogenico completo.

Tre giorni dopo la dimissione compare GVHD di II° grado con interessamento cutaneo e intestinale con iperpiressia, diarrea, vomito per cui viene nuovamente ricoverata. Dopo 3 gg di terapia antibiotica scompare l'iperpiressia mentre compare un aumento della bilirubina (B.T. 2 mg/dl), indice di probabile GVHD epatica che dopo 9 gg aumenta a B.T. 3.3 mg/dl. Contemporaneamente si ha aumento di AST e ALT, si positivizza il CMV-DNA quantitativo, si aggrava la diarrea, compare dispnea con modesta ipossiemia. La colonscopia e la biopsia intestinale evidenziano una colonscopia acuta compatibile con una GVHD acuta. Il quadro complessivo depone per una GVHD di grado IV° per cui si intensifica la terapia con ATG (siero antilinfocitario) e Basilimax (anticorpo monoclonale contro il recettore dell'interleuchina 2).

Dal 23/08 si osserva un peggioramento del quadro addominale e di quello respiratorio. Dal 25/08 compare ipoestesia all'emiviso dx associato a parestesie. La RMN evidenzia lesioni focali multiple (Ø 1-2 mm) presenti in entrambi gli