

senza presenza di conidi. Questi ultimi comparvero solo dopo tre settimane su corn meal agar. Mediante PCR e tipizzazione del DNA il fungo fu identificato come *Alternaria infectoria*.

Risultati. Solo cinque casi di infezioni umane dovute ad *Alternaria infectoria* sono riportati in letteratura. In questo caso l'utilizzo della biologia molecolare ha permesso una rapida e corretta identificazione del microrganismo responsabile consentendo al laboratorio di effettuare il saggio di sensibilità agli antimicotici secondo i criteri forniti dall'NCCLS M38-A e di fornire al clinico in tempi utili informazioni per impostare la terapia adeguata.

P126

ISOLAMENTO DI RHIZOPUS ORYZAE DA FERITA CHIRURGICA: CASO CLINICO

Manchia P., Porcu F., Cossu A., Terrosu L., Bitti A..

U.O. Microbiologia - Presidio Ospedaliero, Ozieri (SS)

Introduzione: *Rhizopus oryzae* è un micete filamentoso ubiquitario appartenente alla famiglia delle Mucoraceae di interesse clinico perché causa di occasionali severe infezioni, spesso fatali nell'uomo. Di solito si tratta di infezioni mucocutanee, rinocerebrali, genitourinarie, gastrointestinali, polmonari e disseminate in pazienti immunocompromessi.

Caso clinico: una paziente di 42 anni accusa forti dolori addominali; ricoverata in ginecologia gli viene praticata una laparoscopia esplorativa che evidenzia una peritonite stercoracea da rottura di diverticolo intestinale.

Nel decorso post operatorio si rendono necessari due ricoveri in terapia intensiva per febbre elevata non controllabile con le terapie antibiotiche e un secondo intervento per un versamento nel Cavo del Douglas; la ferita chirurgica resta aperta e presenta chiari segni di infezione ed infiltrazione ed un andamento torpido.

Materiali e metodi: tutti campioni clinici della paziente (emoculture, un liquido peritoneale ed un catetere in succlavia) processati per germi aerobi, anaerobi e miceti risultarono negativi. Dalla coltura del campione prelevato intraoperatoriamente, durante il secondo intervento, si isola *C. albicans* ed *Enterococcus casseliflavus* (gruppo D). Quest'ultimo germe risulta sensibile solo a Teicoplanina, Vancomicina e Tetraciclina. Dai prelievi di tessuto necrotico della ferita chirurgica aperta si isola il *Rhizopus oryzae*. I campioni erano stati seminati in brodo di arricchimento Nutrient broth (Microbiol) e su Brodo Saboureaux (Biomerieux). Dalle subcolture su agar Saboureaux si osserva una rapida e florida crescita di colonie bianche puntinate di nero ed a fine tessitura cotonosa e fioccosa. L'osservazione microscopica evidenzia caratteristici rizoidi e gli sporangiofori fortemente ramificati e dai clamidoconidi ellissoidali e cilindrici. L'esame microscopico diretto dei campioni biotici di tessuto necrotico, prelevato dalla ferita, che appariva ricoperta da una diffuso essudato "fioccoso", evidenziava un infiltrato di leucociti in disfacimento e di aggregati di ife non settate.

Risultati: la conferma della presenza di *Rhizopus* spp. su diversi campioni, in paziente in trattamento con Econazolo per via sistemica, ha richiesto il trattamento con Anfotericina B per via locale associato ad un accurato curettage giornaliero della ferita. L'efficacia del trattamento è stata confermata dalla negativizzazione delle colture, dalla cicatrizzazione della ferita e dal miglioramento del quadro generale.

Conclusioni: l'isolamento di *Rhizopus oryzae* da ferita chirurgica è una evidenza rara in particolare in un paziente senza patologie predisponenti. Il tipo di intervento, le condizioni generali della paziente, l'ampia ferita, possono avere

favorito la localizzazione del micete peraltro considerato un "ambientale". La tempestività della diagnosi e del trattamento hanno evitato la probabile diffusione dell'infezione data la pericolosità del germe.

P127

UN CASO DI SINDROME VERTIGINOSA CAUSATA DA MUCORMICOSI AURICOLARE IN PAZIENTE IMMUNOCOMPETENTE

Boghi G., Floris B., Masala L.

Servizio di Medicina di Laboratorio
P.O. "G.P. Delogu" di Ghilarza - ASL 5 Oristano

Scopo del lavoro: descrizione di un caso di sindrome vertiginosa causata da mucormicosi auricolare in un paziente immunocompetente.

Caso clinico: uomo di 32 anni che da oltre un anno lamenta otodinia e otorrea, il quale ha già eseguito tre visite ORL senza ottenere nessun miglioramento nonostante le terapie prescritte. Riferisce, inoltre, l'insorgenza da circa dieci mesi di una sindrome vertiginosa trattata con farmaci anti-chinetosici e cinnarizina senza grandi benefici. Anamnesi negativa per disturbi metabolici, immunodepressione o etilismo. Nel condotto uditivo esterno si evidenziava una lesione dalla quale, con lieve raschiamento, si poteva asportare del materiale di colorito nerastro.

Metodica e risultati: i tamponi auricolari sono stati seminati sui seguenti terreni di coltura: AS, MacConkey, SM, AC e agar Saboureaux e incubati a 37°C per 24 ore. Solo sulle piastre di Saboureaux si notava la crescita di colonie biancastre, a tessitura lanuginosa bassa, con verso pallido che dopo 48 ore di incubazione mostravano una colorazione grigio-bruno scuro. La preparazione con nastro adesivo e la coltura su vetrino hanno consentito di osservare la presenza di grandi ife nastriformi, non settate, rizoidi poco sviluppati, sporangi globosi, grigio-bruni e sporangiospore ovalari, ialine o brune, spesso striate.

Conclusioni: gli aspetti macroscopici e microscopici osservati erano compatibili con una mucormicosi, infezione sostenuta da miceti appartenenti alla classe degli Zigomiceti.

Il paziente è stato trattato con lavaggi di acido boricco, cortisonici e antibiotici con la scomparsa in pochi giorni della sindrome vertiginosa seguita dopo qualche tempo dalla scomparsa dell'otodinia. Gli esami micologici colturali di controllo hanno dato esito negativo. A 7 mesi dall'episodio il paziente non ha manifestato alcun segno di reinfezione.

La terapia di elezione delle mucormicosi è il trattamento con Anfotericina B, ciò nonostante nel caso sopradescritto, si è dimostrato che il trattamento seguito ha determinato un'ottima risposta, senza esporre il paziente ai ben noti effetti tossici secondari all'uso dell'Anfotericina B.

P128

UN CASO CLINICO: NOCARDIOSI CEREBRALE IN PAZIENTE IMMUNOCOMPROMESSO

*Parisi G., *Minniti R.R., *Pinzi M., *Esposito V., *Paradisi E., *Tronci M.

*Azienda Ospedaliera S. Camillo-Forlanini Roma
U.O.C. Microbiologia e Virologia-S.S. San Camillo.

Introduzione.

Nocardia asteroides è un batterio Gram positivo aerobio fila-

mentoso, debolmente alcool acido resistente che si ritrova abitualmente nel suolo.

Scopo del lavoro.

Descrizione di un caso clinico di Nocardiosi cerebrale in paziente immunocompromesso

Caso clinico.

Si riporta il caso di un paziente di 72a affetto da linfoma non Hodgkin che si presenta al pronto soccorso del nostro ospedale per disturbi del visus, stato di confusione e cefalea. Ricoverato in un reparto di medicina, si assiste ad un peggioramento dei sintomi, senso di peso e formicolio, diminuzione della forza al braccio e alla gamba destra, in breve tempo afasia e stato di sopore. TAC e RMN mostrano la presenza di una formazione in sede parietale multiloculata a struttura fluida circoscritta da spesse pareti, di probabile natura ascessuale o eteroplastica. Il paziente presenta un picco febbrile per il quale viene instaurata terapia antibiotica empirica. In considerazione del peggioramento clinico si procede ad un intervento di craniotomia e asportazione della lesione espansiva cerebrale. In sede d'intervento poiché le caratteristiche morfologiche della lesione depongono per una raccolta ascessuale cerebrale viene eseguito un drenaggio chirurgico con invio del materiale purulento al Laboratorio di Microbiologia.

Materiali e Metodi.

L'esame culturale della raccolta ascessuale inviata al Laboratorio di Microbiologia mostrava, dopo 3 giorni d'incubazione, sviluppo su agar sangue e agar cioccolato di colonie di consistenza secca e gessata, grinzose di colore bianco-grigiastre con caratteristico odore pungente di muffa. La colorazione di Gram mostrava forme ramificate Gram positive. La colorazione di Ziehl Neelsen modificata mostrava forme ramificate debolmente acido alcool resistenti. La positività all'ureasi, l'idrolisi della caseina, la resistenza al lisozima, confermavano la diagnosi microbiologica di *Nocardia asteroides*.

Conclusioni.

Veniva instaurata terapia mirata con Co-trimossazolo e si assisteva ad un miglioramento delle condizioni cliniche del paziente. Sebbene non molto frequente la nocardiosi deve essere presa in considerazione nella diagnosi differenziale di febbre accompagnata da sintomi neurologici nei pazienti immunocompromessi. Un precoce intervento medico e chirurgico ed un accurato referto microbiologico sono determinanti per trattamento adeguato ed un esito favorevole della malattia.

P129

SENSIBILITA' IN VITRO AL FLUCONAZOLO DI ISOLATI VAGINALI DI *CANDIDA* spp.

¹Asticcioli S., ¹Migliavacca R., ¹Nucleo E., ²Spalla M., ¹Zara F., ²Sacco L., ¹Romero E., ¹Pagani L.

¹Dip. S.M.E.C. sez. di Microbiologia, Università di Pavia, via Brambilla 74, 27100 Pavia;

²Servizio Analisi Microbiologiche I.R.C.C.S. "S. Matteo", p.le Golgi, 27100 Pavia.

Obiettivo Scopo dello studio è stato valutare l'attività *in vitro* del fluconazolo, antimicotico ampiamente utilizzato sia per la profilassi che per il trattamento delle infezioni fungine, nei confronti di isolati di *Candida* spp. Le vaginiti da *Candida* rappresentano infatti una patologia in evoluzione per aumento dell'incidenza e comparsa di fenomeni di farmaco-resistenza.

Metodologie Negli anni '00-'03 160 tamponi vaginali sono

stati raccolti da pazienti afferenti all'ambulatorio dell'I.R.C.C.S. S. Matteo di Pavia. I miceti isolati sono stati identificati mediante esame macro e microscopico, terreni selettivi (*Cromalbicans*, Biolife), caratterizzazione del profilo biochimico-metabolico attraverso kit commerciali (API 20 C AUX - BioMérieux) e strumenti automatizzati (VITEK system- BioMérieux) e sono stati testati *in vitro* per la sensibilità al fluconazolo mediante il metodo di microdiluzione in brodo Sensititre YeastOne. I risultati sono stati interpretati tramite i breakpoint di riferimento NCCLS (M27-A).

Risultati I ceppi sono risultati sensibili al fluconazolo nel 65.1% dei casi, sensibili dose-dipendente nel 17.2% e resistenti nel 17.7% dei casi.

La distribuzione della farmaco-resistenza ha rivelato variazioni in rapporto alle specie considerate.

C. albicans, specie isolata nel 51.7% dei casi, ha mostrato elevata sensibilità verso il composto azolico (91%). *C. glabrata*, presente nel 28.9% dei casi, è risultata resistente al fluconazolo con percentuali maggiori (17.3%). Analogamente *C. tropicalis* e *C. krusei*, seppur con risultati diversi.

I ceppi di *Saccharomyces cerevisiae*, *C. parapsilosis*, *C. lusitanae*, *C. guilliermondii*, *C. kefyri*, *C. lambica* e *Trichosporon* spp. sono risultati sensibili nel 100% dei casi.

Conclusioni. Come osservato in altri studi, la percentuale di ceppi di *C. glabrata* classificati come sensibili dose-dipendenti o resistenti è risultata maggiore di quella rilevata per le altre specie saggiate e l'innata resistenza al fluconazolo di *C. krusei* è stata confermata.

La corretta identificazione a livello di specie assume perciò un'indubbia importanza in quanto a specie differenti è correlata una diversa farmaco-resistenza.

P130

IDENTIFICAZIONE RAPIDA DI INFEZIONE DA MICETI IN CAMPIONI BIOLOGICI: UTILIZZO DI UNA PCR-RFLP

Paglia M.G., Bordi E., Mezzo I., Nebuloso E., Pucillo L.P., Visca P.

Laboratorio di analisi Chimico - Cliniche e Microbiologia - Unità di Microbiologia Molecolare, I.N.M.I. L. Spallanzani, IRCCS, Roma.

Le micosi sistemiche rappresentano una delle complicanze più gravi nei pazienti immunocompromessi, nei trapiantati d'organo solido e/o di midollo osseo, nei pazienti oncologici e nei soggetti con AIDS, per i quali le infezioni da *Candida*, *Cryptococcus* e *Aspergillus* costituiscono le patologie fungine più frequentemente riscontrate. I metodi tradizionali per l'identificazione dei miceti includono l'esame morfologico e l'allestimento di saggi biochimici per l'identificazione di specie fungina. Tali sistemi sono laboriosi e talvolta non conclusivi per alcune specie rare. La diagnosi culturale di queste infezioni è tardiva e non di rado è basata sull'esclusione di patologie batteriche o virali. Tale limitazione può essere superata da mezzi diagnostici che forniscano al contempo una rapida individuazione del micete ad una corretta assegnazione tassonomica. I metodi molecolari basati sull'amplificazione dei geni che codificano per gli RNA ribosomali (rDNA) costituiscono un valido strumento di diagnosi: (i) rDNA è sovente multicopie nei genomi microbici e questo rende il sistema più sensibile; (ii) sequenze variabili nel contesto genico conservato (ad esempio dei 18S rDNA) sono utili per il riconoscimento di genere oltre che di specie.

Obiettivo. Applicare e valutare una metodica diagnostica su base genetica mediante PCR-RFLP che consenta l'identifica-