

M027**DIAGNOSI SIEROLOGICA DI
CHLAMYDIA PNEUMONIAE:
DUE METODOLOGIE A CONFRONTO**De Luca C., Lambiase A., Piccoli S., Avagliano G.,
Napolitano A., Tamburro F., Formicola V., Grisolia V.,Area Funzionale di Diagnostica Microbiologica,
AUP Università "Federico II" Napoli.
Azienda Ospedaliera Santobono-Pausillipon

Chlamydia pneumoniae (Cp) rappresenta un importante patogeno respiratorio responsabile di circa il 10% di tutti i casi di polmonite di pazienti ospedalizzati ed in comunità. Fu isolato per la prima volta a Taiwan e classificato solo nel 1989 come una nuova specie del genere *Chlamydia*. La vera incidenza non è conosciuta per la difficoltà di confermare la diagnosi, ma si ritiene che nel mondo circa la metà della popolazione adulta presenti anticorpi anti-Cp e che l'incidenza annuale sia valutabile attorno al 1-2%. La diagnosi di laboratorio è basata sulla ricerca sierologica delle immunoglobuline di classe M, A e G in quanto quella diretta tramite coltura e/o metodiche di amplificazione genica (NAA, Nucleic Acid Amplification) non sono di routine.

Obiettivo del nostro studio è stato quello di correlare due differenti metodi di indagine: ELISA (Cp-test, Eurospital, Trieste) che utilizza come antigeni corpi elementari purificati del ceppo TW183, e la MIF (MRL, Alifax) descritta da Yang e Grayston, che fa uso anch'essa di corpi elementari purificati ma adesi a slide, ritenuta il test di riferimento.

Sono stati testati 185 campioni di siero degli ultimi tre anni, provenienti da bambini di età compresa tra 1 e 12 anni, di cui 150 con infezioni respiratorie e 35 risultati sani all'esame obiettivo e MIF negativi; è stato nostro interesse inoltre verificare la sieroprevalenza nel campione esaminato.

In 43/150 bambini (28,6%) con sintomatologia respiratoria è stata diagnosticata infezione da Cp secondo i criteri comunemente accettati: affezione respiratoria alte e/o basse vie, presenza di titolo anticorpale IgM >=16, IgG >=512, scomparsa della sintomatologia dopo trattamento con macrolidi.

I risultati della correlazione sono riassunti nelle tabelle 1 e 2.

Tab.1	Gruppo di Controllo (N=35)		
	MIF	ELISA	Concordanza %
IgM neg	35	35	100
IgG neg	35	34	97.14

Tab.2	Gruppo Pazienti (N=150)		
	MIF	ELISA	Concordanza %
IgM pos	43	43	100
IgG pos	57	59	96.6

Sieroprevalenza: IgG 38% (MIF)

Incidenza: IgM 28.6%

Questi dati indicano che la metodica in ELISA può considerarsi un metodo affidabile per la diagnosi sierologica di Cp. Inoltre l'interpretazione non soggettiva, la facilità di esecuzione e la possibilità di automazione rappresentano un notevole vantaggio anche per la verifica epidemiologica.

M028**FARINGO-TONSILLITI DA
STREPTOCOCCUS PYOGENES:
STUDIO DELLA RESISTENZA AI MACROLIDI**Bandettini R., Pescetto L., Lualdi S., Mentasti M.,
Barretta M.A.Laboratorio Analisi chimico-cliniche e Microbiologia -
Istituto Giannina Gaslini, GENOVA.**Introduzione:**

In Italia negli anni '90 è stato segnalato un graduale incremento d'incidenza di ceppi resistenti a eritromicina. Lo scopo del nostro studio è stato quello di valutare la resistenza ai macrolidi e i fenotipi di resistenza in ceppi di *Streptococcus pyogenes* isolati in pazienti in età pediatrica durante un episodio epidemico.

Materiali e metodi:

Sono stati studiati 120 ceppi di *Streptococcus pyogenes* isolati da tamponi faringei. Isolati multipli dello stesso paziente sono stati scartati. La valutazione della sensibilità agli antibiotici è stata condotta con il test di diffusione da dischetto in agar Mueller Hinton + 5% sangue di montone. I fenotipi di resistenza ai macrolidi sono stati studiati con l'apposizione di un dischetto di clindamicina a circa 2 cm. da uno di eritromicina.

Risultati:

Tutti i 120 (100%) ceppi di *Streptococcus pyogenes* sono risultati sensibili alla penicillina; 35 (29,1%) sono risultati resistenti a eritromicina mentre 13 (10,8%) a rokitamicina; 18 (15%) infine sono risultati resistenti a clindamicina. Per quanto riguarda i fenotipi di resistenza ai macrolidi abbiamo avuto i seguenti risultati:

il 52,2% di ceppi eritromicina-resistenti erano fenotipo Costitutivo, il 39,1% fenotipo M e 8,7% fenotipo Inducibile.

Discussione:

Anche questo studio conferma i dati riportati in letteratura riguardo la penicillina come farmaco più attivo verso *Streptococcus pyogenes*. Per quanto riguarda l'attività dei macrolidi abbiamo rokitamicina che mostra una migliore performance rispetto a eritromicina nonostante la percentuale di resistenza sia più elevata rispetto alle nostre precedenti osservazioni condotte nel biennio 2001-2002 (rispettivamente 7,7% e 5,0%). Diversamente dai dati riportati in letteratura abbiamo una maggiore prevalenza del fenotipo Costitutivo mentre l'Inducibile è solo l'8,7%. In conclusione è importante continuare il monitoraggio dell'antibiotico-resistenza di *Streptococcus pyogenes* e instaurare/mantenere una stretta collaborazione con il clinico per una più razionale applicazione terapeutica.

M029**IL TEST IMMUNOCROMATOGRAFICO
"MONOSTEP HP - DYASET" PER LA
DETERMINAZIONE DI ANTIGENI
DI HELICOBACTER PYLORI NELLE FECI.**Moroni A., Marangoni A., Storni E., Biagi M., Savioli F.;
Maresta P.; Sambri V.; Cevenini R.U.O. Microbiologia, Policlinico S.Orsola-Malpighi.Via Massarenti 9,
40138 Bologna.

In questo studio sono stati comparativamente valutati due

differenti kit la determinazione della presenza di antigene di *H.pylori* nelle feci: "Monostep HP - DYASET" e "Fecal-clean Helicobacter p. Ag - ASTRA Medic". Il primo è un metodo immunocromatografico su cartuccia che impiega anticorpi policlonali anti *H.pylori* coniugati con oro colloidale, mentre il secondo è un metodo immunoenzimatico "a sandwich" basato su micropiastre sensibilizzate con anticorpi monoclonali *H.pylori* specifici.

In questo studio sono stati valutati 250 campioni fecali ottenuti da pazienti con sintomatologia dispeptica inviati al Laboratorio per la determinazione della presenza di antigeni fecali di *H.pylori*. L'età dei pazienti era variabile da 4 mesi a 93 anni e la suddivisione per sesso era del 49.4% per il sesso femminile a del 50.6% per quello maschile. Il metodo ASTRA Medic ha messo in evidenza i seguenti risultati: 210 negativi, 26 positivi e 14 border line. Il metodo immunocromatografico ha mostrato i seguenti risultati: 180 campioni negativi, 20 border line (intensità di reazione paragonabile al controllo "border line" fornito col kit) e 50 positivi. La comparazione fra i risultati ottenuti coi due metodi si evince che: 176 campioni fecali sono stati identificati come negativi da entrambi i metodi utilizzati, 25 sono stati i campioni identificati come positivi da questi due kit e 5 sono stati i risultati border line per entrambi i metodi. Le discrepanze di risultato messe in evidenza sono state quelle di seguito riportate: 17 campioni negativi per il kit ASTRA Medic sono stati identificati come positivi dal test immunocromatografico mentre 15 sono stati identificati come border line dallo stesso metodo rapido. Dei 9 campioni identificati come border line dal metodo immunoenzimatico non concordanti col test rapido 2 sono risultati negativi e 7 positivi. E' stata inoltre valutata la concordanza (su un ridotto numero di campioni pari a 70 totali) con un altro kit immunoenzimatico ("AMPLIFIED IDEIATMHP STARTM - DAKO") con risultati sostanzialmente paragonabili. Dati preliminari sulla specificità del test immunocromatografico sono stati ottenuti con differenti campioni fecali (da soggetti sani e preventivamente esaminati sia col metodo immunoenzimatico che cromatografico) contenenti quantità note dei seguenti batteri e virus (potenzialmente interferenti): *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter upsaliensis*, *Salmonella* spp. (gruppo B), *Escherichia coli* (stipite enteropatogeno), rotavirus e adenovirus. I dati suggeriscono che il test immunocromatografico DYASET possa essere utilizzato, come metodo rapido, per la diagnosi di infezione da *H.pylori* poiché sufficientemente sensibile e specifico.

M030

VALUTAZIONE DI UN METODO DIRETTO PER L'ESECUZIONE DI IDENTIFICAZIONE ED ANTIBIOGRAMMA DA EMOCOLTURE CON SISTEMA VITEK2

Conte E., Vismara C., Corengia V., Carati M.R., Viola G.

Laboratorio di Analisi Cliniche e Microbiologia, Istituto per lo Studio e la Cura dei Tumori di Milano

Obiettivo: valutazione di un metodo rapido per la processazione delle emocolture che permetta di ridurre i tempi di risposta nella diagnostica delle batteriemie.

Metodologia: la tecnica prevede l'allestimento di identificazione ed antibiogramma direttamente dai flaconi per emocoltura segnalati positivi da Bactec 9120 dopo aver ottenuto, mediante doppia centrifugazione, una sospensione batterica idonea all'inoculo delle card specifiche col sistema Vitek2. La scelta delle card è conseguente alle caratteristiche del microrganismo evidenziate con la colorazione di Gram. Sono

state effettuate anche le semine su idonei terreni di coltura ed eseguiti antibiogramma ed identificazione da colonie (metodo standard); sono stati in seguito confrontati i risultati.

Risultati: sono stati valutati 56 casi di batteriemie comparando i risultati ottenuti con entrambi i metodi.

Per quanto riguarda i Gram negativi, il metodo diretto ha permesso di ottenere una identificazione valida per 21 microrganismi rispetto ai 20 del metodo standard; per i Gram positivi una corretta identificazione è stata ottenuta in 23 microrganismi con il metodo diretto e in 25 con il metodo standard (tabella 1).

Tabella 1:

Identificazione	GRAM NEGATIVI		GRAM POSITIVI	
	Metodo Diretto	Metodo Standard	Metodo Diretto	Metodo Standard
Accettabile, Buona, Molto buona, Eccellente	21	20	23	25
Discriminazione insufficiente	3	3	5	4
Non accettabile	0	1	3	2

Per quanto riguarda gli antibiogrammi sono state confrontate, per ciascuna combinazione antibiotico-microrganismo, le classi di sensibilità (S-I-R) e sono state definite "minor error" le discordanze che comportano il passaggio da una classe di sensibilità a quella immediatamente successiva o precedente (S-I oppure I-R), "major error" il passaggio da Resistente a Sensibile e "very mayor error" il caso opposto.

Analizzando i nostri dati si evince che su 56 ceppi testati (per un totale di 865 combinazioni antibiotico-microrganismo) abbiamo avuto una concordanza di risultati pari al 96%; sono state individuate 34 discordanze di cui solo 3 "very major error"(0.3%) (tabella 2).

Tabella 2:

ANTIBIOGRAMMA N° test 865		
Agreement	831	96%
Very major Error	3	0.3%
Mayor error	2	0.2%
Minor error	29	3.5%

Conclusioni: i risultati delle identificazioni ottenute con i due metodi sono paragonabili; utilizzando il metodo diretto sarebbe quindi possibile fornire l'identificazione batterica entro poche ore dalla positivizzazione dell'emocoltura. Per quanto riguarda i test di sensibilità l'elevata concordanza riscontrata nei risultati giustifica l'utilizzo del metodo diretto poiché permette di anticipare la risposta definitiva di 12-24 ore e di impostare precocemente una terapia antibiotica mirata.

M031

POLMONITI DA COXIELLA BURNETII: SEGNALE DI UN'EPIDEMIA IN PROVINCIA DI COMO

Pusterla L.°, Sala E., Spinelli M., Savio S., Cimetti S.#, Gangemi A.#, Maspero A.*, Giura R.*, Gandola O.^\, Gridavilla G.^\, Longoni E.°, Santoro D.°, Giana G.

Laboratorio di Patologia Clinica, *U.O. Pneumologia, °U.O. Malattie Infettive, #Direzione Sanitaria - Ospedale Sant'Anna - ^Servizio di Medicina Veterinaria - Azienda Sanitaria Locale - COMO.

• *Coxiella burnetii*, agente eziologico responsabile della febbre Q, è un germe intracellulare appartenente alla fami-