

mirata. Nel nostro studio proponiamo una possibile maniera di fornire al clinico dati preliminari sui microrganismi responsabili di batteriemie e la loro sensibilità agli antimicrobici. A tal fine, per i campioni rivelatisi positivi con il sistema in uso nel nostro laboratorio (BACTEC 5050, Becton Dickinson), oltre alle consuete subculture, utilizzando direttamente la brodocoltura sono stati allestiti due vetrini per esame batterioscopico, nonché è stata seminata una piastra di agar Muller-Hinton per l'esecuzione di un antibiogramma secondo Bauer-Kirby. Sono state eseguite quindi due colorazioni, rispettivamente con il metodo di Gram e con blu di metilene; per l'antibiogramma manuale sono stati testati, in base alla colorazione di Gram, otto antibiotici, uguali a quelli utilizzati per l'antibiogramma automatizzato (VITEK, bioMérieux). Sono stati presi in considerazione 46 campioni positivi (27 stafilococchi, 15 bacilli Gram negativi, 2 miceti, 1 *L. monocitogenes*, 1 *N. meningitidis*), sui quali sono stati eseguiti 40 antibiogrammi con metodo automatizzato. In tutti i campioni la morfologia e le caratteristiche tintoriali evidenziate dai vetrini sono state confermate dalla definitiva identificazione. La corrispondenza tra i risultati dell'antibiogramma secondo Bauer-Kirby e quello automatizzato, sono esposti nella tabella seguente.

GRAM-NEGATIVI		GRAM-POSITIVI	
Antibiotico	Corr. (%)	Antibiotico	Corr. (%)
Piperacillina	92	Penicillina	100
Aztreonam	100	Oxacillina	100
Ceftazidime	92	Vancomicina	100
Amox.+ ac.clav	92	Eritromicina	85
Imipenem	84	Ciprofloxacina	85
Ciprofloxacina	92	Teicoplanina	96
Co- trimossazolo	100	Clindamicina	92
Tobramicina	100	Cefalotina	100

Sulla base della concordanza tra i dati preliminari e quelli definitivi, il protocollo da noi utilizzato permette di fornire al clinico, in tempi ridotti rispetto a quelli di routine e con una buona attendibilità, informazioni sia sulla natura dei microrganismi responsabili delle batteriemie che sulla loro sensibilità agli antibiotici.

M049

EFFICACIA DI UNA FORMULAZIONE CONTENENTE PRO-ANTIOSSIDANTI COME COADIUVANTE NEL TRATTAMENTO DELLE INFEZIONI BATTERICHE CUTANEE

De Luca C.; Mikhal'chik E.; Kharaeva Z.; Luci A.; Korkina L.

Istituto Dermatologico dell'Immacolata, IRCCS,
Via Monti di Creta 104, 00167, Roma
Dept. Molecular Biology, Russian State Medical University,
Ostrovityanova 1, Moscow 117513, Russia

Il ruolo chiave delle specie reattive dell'ossigeno (ROS) e dell'azoto (RNS) prodotte dai fagociti nella immunità aspecifica antibatterica è ampiamente descritto. ROS ed RNS, principalmente ipoclorito, idrossil radicale e perossinitrito, uccidono i batteri nel milieu extracellulare, e ne facilitano la digestione intracellulare. L'eccessivo rilascio di radicali contribuisce tuttavia al danno infiammatorio cellulare e tissutale. Abbiamo quindi ipotizzato che una formulazione efficace nel potenziare l'immunità antibatterica debba contenere molecole che stimolino una moderata produzione di ROS/RNS, in associazione ad antiossidanti che proteggano leucociti e tessuti dell'ospite dal danno ossidativo.

Le proprietà pro/antiossidanti di Immugen® (IDI Farmaceutici Srl, Pomezia) e delle sue componenti (ubichinone, a-tocoferolo, L-metionina, selenio aspartato, fosfolipidi di soia) sono state studiate *in vitro* ed *ex vivo* con EPR, chemiluminescenza, sonde fluorescenti, spettrofotometria. I risultati hanno dimostrato le proprietà scavenger/antiossidanti di ubichinone e vitamina E, e il marcato effetto pro-ossidante, stimolante la generazione intracellulare di radicali, di metionina e fosfolipidi polinsaturi.

L'infezione stafilococcica nello stadio acuto deprime la produzione intra-leucocitaria di ROS, e favorisce il rilascio extracellulare di radicali. A questo contesto pro-ossidante, l'organismo risponde in *maniera adattativa* con l'induzione dei sistemi di difesa antiossidanti. *In vitro* l'incubazione dei leucociti dei pazienti in presenza di IL-1 beta o IFN-gamma ricombinanti potenzia la produzione intra-leucocitaria dei ROS e l'efficienza della fagocitosi, e inibisce il rilascio extracellulare di radicali. Il presente studio documenta l'efficacia della somministrazione di Immugen® (4 cps/die) come coadiuvante della terapia antibiotica e disintossicante, nelle infezioni stafilococciche (angina, 60 pazienti e flemmoni/ascessi, 58 pazienti). L'associazione potenziava in modo specifico la risposta immunitaria all'agente batterico, con aumento della produzione di ROS/RNS battericidi, soprattutto intracellulare, e dell'indice di fagocitosi. La citotossicità dei radicali nel focolaio infiammatorio era altresì controllata nei leucociti stessi da una incrementata dell'attività degli enzimi antiossidanti (superossido dismutasi, catalasi) e dall'aumento della frazione antiossidante plasmatica.

M050

ATTIVITA' DEI MACROLIDIA 14, 15 E 16 ATOMI DI CARBONIO VS STAPHYLOCOCCUS AUREUS

Ferrari Lucio

Laboratorio di Microbiologia,
Azienda Istituti Ospitalieri di Cremona

Introduzione

Con questo studio si è voluta verificare l'attività *in vitro* dei macrolidi a 14, 15 e 16 atomi di carbonio Vs *Staphylococcus aureus*.

Materiali e metodi

E' stata valutata l'attività di Eritromicina, Claritromicina, Azitromicina e Rokitammina verso 512 ceppi di *St. aureus* Meticillino Sensibile (MSSA) e 187 ceppi di *St. aureus* Meticillino Resistente (MRSA).

Sono stati utilizzati ceppi batterici provenienti dalle divisioni del nostro ospedale e dagli ambulatori ai quali afferiscono i pazienti esterni.

La determinazione della sensibilità a Eritromicina (E), Claritromicina (CLR), Azitromicina (AZM) e Rokitammina (ROK) è stata effettuata mediante antibiogramma secondo il metodo di Kirby Bauer, in piastre di Mueller Hinton Agar.

L'interpretazione è stata effettuata valutando il diametro delle aree di inibizione come suggerito dall'NCCLS.

Risultati

Dallo studio si evidenzia una notevole attività dei macrolidi a 14 e 15 atomi di Carbonio Vs MSSA (88.7%). Ancora più brillante si dimostra l'attività dei macrolidi a 16 atomi (di poco inferiore al 97%).

Mentre è la scarsa l'attività dimostrata da tutte le molecole impiegate Vs gli MRSA (vicina al 30%).

Conclusioni

Essendo i macrolidi molecole attive Vs numerosi patogeni delle vie respiratorie, quali *Mycoplasma pneumoniae*,

Legionella pneumophyla, *Moraxella catarrhalis* ed altri, essi rappresentano importanti presidi terapeutici nel trattamento delle infezioni dell'apparato respiratorio e spesso vengono utilizzati sia nel paziente adulto, che pediatrico, come terapia empirica d'attacco. La buona attività dimostrata nei confronti di MSSA può conferire maggior tranquillità al clinico che impieghi tali molecole proprio in terapia empirica, in attesa dei dati microbiologici definitivi.

M051

RUOLO DELL'*HAEMOPHILUS PARAINFLUENZAE* NELLE RIACUTIZZAZIONI DELLE BPCO.

Barbaro P., Petraroli C., Rogolino B., Sergi D.
Agati G.*, Scaramozzino A.*

Azienda Ospedaliera "Bianchi-Melacrino-Morelli" Reggio Calabria
U. O. di Patologia Clinica Ospedale Morelli

* U. O. di Broncopneumotisiologia Ospedale Morelli

Introduzione Le riacutizzazioni della bronchite cronica vengono definite in termini clinici, come "modificazioni qualitative dell'espettorazione, aumento delle secrezioni bronchiali e viraggio purulento, eventualmente associate ad accentuazione della tosse e della dispnea". Circa il 50% sarebbero di natura infettiva batterica, ed il 25-50% circa di origine virale. I due dati si sovrappongono in quanto diversi casi di infezione batterica sono riportati preceduti da una infezione virale. I patogeni tradizionalmente considerati principali responsabili di tali riacutizzazioni sono lo *S. pneumoniae*, l'*H. influenzae* non capsulato, la *M. catarrhalis*, ma non si può escludere a nostro avviso, che la colonizzazione bronchiale da parte di specie tradizionalmente considerate saprofiti, non possa essere di importanza patogenetica nelle bronchiti croniche e nella BPCO. Le osservazioni di questo studio, si prefiggono lo scopo di dare un contributo alla determinazione del ruolo non ben definito dell'*Haemophilus parainfluenzae*, come responsabile della patogenesi infettiva della BPCO.

Materiali e Metodi Nel periodo di osservazione compreso tra ottobre 2001 e dicembre 2002, sono stati presi in considerazione 842 campioni di espettorato, rappresentanti il primo campione raccolto subito dopo il ricovero, da pazienti affetti da malattia broncostruttiva in fase di riacutizzazione, secondo i criteri di Anthonisen, e ritenuti rappresentativi del focolaio d'infezione secondo i criteri di Bartlett. I campioni sono stati processati per l'isolamento dei potenziali patogeni secondo le metodiche convenzionali, e sono state considerate significative cariche batteriche $\geq 10^6$ CFU/ml. La ricerca delle β -lattamasi è stata eseguita mediante l'utilizzo di dischetti impregnati di cefalosporina cromogena, Nitrocefina. Età media dei pazienti 75 ± 10 anni.

Risultati Sugli 842 campioni di espettorato sono stati isolati 1148 microrganismi verosimilmente responsabili dei fenomeni di riacutizzazione; 541 Gram negativi (47.1%), 344 Gram positivi (30.0%), 263 *Haemophilus spp* (23.0%). *H. parainfluenzae* è risultato responsabile del 24.7% delle riacutizzazioni con 208 isolamenti, di cui il 15.2% degli isolati (128) in coltura pura, e l'8.9% (75) associati ad altri batteri.

Conclusioni Anche se queste osservazioni scaturiscono da risultati ottenuti in un'area geografica ben definita, -la presenza in questi microrganismi come in altri batteri Gram negativi di fattori di patogenicità come la produzione di enzimi litici sulle IgAs, che danneggiando l'epitelio ciliato, favoriscono la colonizzazione delle superfici delle mucose respiratorie, nonché l'attività emolitica e la produzione di istami-

na, -la non trascurabile percentuale di isolamenti 24.7%, di cui il 15.2% in coltura pura, -le valutazioni clinico-terapeutiche sul paziente prima e dopo l'isolamento, correlate e validate dalle osservazioni dei Colleghi della Divisione di Broncopneumotisiologia, -l'esperienza del nostro Ospedale, relativa non solo al periodo considerato ma svolta nel corso dell'ultimo decennio in pazienti bronchitici cronici, ci portano ad ipotizzare un ruolo sicuramente patogenetico svolto da questo microrganismo nelle riacutizzazioni infettive della BPCO, in contrasto con l'accettata patogenicità relativa all'*H. influenzae* non capsulato e, contrariamente a quanto riportato da AA sul ruolo poco chiaro dell'*H. parainfluenzae* come responsabile della riacutizzazione infettiva della BPCO.

M052

CHLAMYDIA TRACHOMATIS: CINQUE ANNI DI ESPERIENZA NEL NOSTRO LABORATORIO (DATI PRELIMINARI).

Fianchino B., Del Re S., Gregori G., Faraoni S., Castelli L., De Paola M., Sergi G., Grasso G., Milano R.

Dipartimento di Diagnostica Di Laboratorio,
U.O. Microbiologia, Ospedale Amedeo di Savoia, Torino

Introduzione. *Chlamydia trachomatis* è un batterio gram negativo immobile, parassita intracellulare obbligato delle cellule eucariote.

È uno dei principali patogeni responsabili di infezioni trasmesse sessualmente. Può causare uretriti e proctiti, cerviciti, salpingiti, malattia infiammatoria pelvica e può essere causa di sterilità.

Scopo del lavoro. Si è voluta analizzare la variazione della positività all'infezione da *Chlamydia trachomatis* su campioni pervenuti nel periodo compreso tra gennaio 1998 e dicembre 2002, valutando l'eterogeneità della popolazione da cui provenivano: pazienti a rischio (sieropositivi, omosessuali, prostitute) e non esposti a particolari fattori di rischio (pazienti con sospette vaginiti, portatrici di IUD, candidate alla fecondazione assistita).

Materiali e metodi. La ricerca di *Chlamydia trachomatis* è stata eseguita su tamponi uretrali, tamponi endocervicali, urine e liquido seminale utilizzando una metodica di amplificazione di PCR qualitativa (kit AMPLICOR CT/NG, Roche Diagnostic System-NJ, USA).

È un test multiplex che permette la contemporanea amplificazione del DNA bersaglio di *Chlamydia trachomatis* e di *Neisseria gonorrhoeae*. In questo studio sono stati presi in considerazione solo i dati relativi a *Chlamydia trachomatis*; quelli relativi a *Neisseria gonorrhoeae* saranno oggetto di altra valutazione. La rivelazione è stata ottenuta tramite reazione colorimetrica in seguito ad ibridazione dei prodotti amplificati con sonde oligonucleotidiche specifiche per il bersaglio. Tutta la metodica è stata eseguita utilizzando lo strumento COBAS AMPLICOR (Roche Diagnostic System-NJ, USA).

Risultati. Nell'arco di tempo sopra indicato sono stati processati 5380 campioni, che presentavano una percentuale di positività media del 4,92%. Valutando ogni singolo anno si è riscontrata un'oscillazione della positività da un minimo del 3,23% (nel 1998) ad un massimo 6,64% (nel 1999).

Ci riserviamo di presentare un'analisi più approfondita della distribuzione dei dati in nostro possesso in base alla provenienza, sesso e razza dei pazienti ed alla eventuale presenza di fattori di rischio.