E-01

STUDIO POPOLAZIONE BATTERICA DAL 15-06-2001 AL 31-12-2001 PRESSO OSPEDALE S.PAOLO - SAVONA

A.M .Campanella[a], C .Accinelli[a], S .Beruto[a], M .Pino[a], I .Rezza[a],F.Minetti[a], R .Bona[a], G .Calcagno[b]

[a] Laboratorio Analisi ,Ospedale S. Paolo, Savona; [b] Malattie Infettive, Ospedale S. Paolo, Savona.

Scopo del lavoro

Scopo del lavoro è cercare di ottenere per ciascuna U.O. una mappatura della popolazione batterica presente al fine di ottimizzare i comportamenti, le decisioni terapeutiche e per evidenziare eventuali situazioni a rischio nell'ambito della lotta alle infezioni ospedaliere.

Materiali e Metodi

Sono state analizzate tutte le colture nel periodo 01-01-01 / 31-12-01. Le colture positive sono state sottoposte ad identificazione con il sistema VITEK. I dati relativi al periodo 15-06-01 / 31-12-01 sono stati poi suddivisi per isolati provenienti dai seguenti materiali : urine, broncoaspirati ed espettorati, CVC,CA, punte da drenaggio, pus.

Risultati

Isolamento Microrganismi- Ospedale S. Paolo

	01-01-2001 / 31-12-2001	15-06-2001 / 31-12-2001
Staphylococcus aureus	17,1 %	15,1 %
Staphylococcus epidermidis	7,3 %	8,2 %
Escherichia coli	28,2 %	27,4 %
Klebsiella pneumoniae	5,9 %	6,5 %
Pseudomonas ae.	14,3 %	16,8 %
Proteus mirabilis	6,4 %	6 %
Altri	20,8 %	20,1 %

(vedi tabella 1-2)

Discussione

L'elaborazione analitica degli isolamenti che sono riportati nelle tabelle 3-4-5-6 ha permesso la mappatura degli agenti batterici responsabili delle infezioni nelle varie U.O. (vedi tabelle 7-8-9-10).

Conclusioni

1) Dall'analisi dei dati del nostro Ospedale abbiamo rilevato, come comprensibile, una diversa distribuzione dei materiali inviati: il 47% dei broncoaspirati/espettorati proviene dalla rianimazione mentre il 46,5% delle urinocolture proviene dalla nefrologia. Nei broncoaspirati abbiamo osservato una netta predominanza di Pseudomonas ae; le urinocolture sono risultate positive al 50% per Escherichia coli. (vedi tabelle 3-4-7-8)
2) Evidenziamo una scarsa abitudine delle U.O. Chirurgiche ad utilizzare le indagini microbiologiche.
3) Ritenendo indispensabile creare un feed-back tra il clinico, il microbiologo e l'infettivologo per un'efficace prevenzione e lotta alle infezioni ospedaliere, abbiamo introdotto, da un anno, la divulgazione periodica di questi dati.

E-02

STUDIO ANTIBIOTICO RESISTENZA PRESSO L'OSPEDALE SAN PAOLO DI SAVONA NELL'ANNO 2001

F. MINETTI[2], G. CALCAGNO[1], M. ANSELMO[1], R. BONA[2], G. MENARDO[1]
1) U.O. Malattie Infettive – Ospedale San Paolo Savona ASL 2
2) U.O. Laboratorio Analisi – Ospedale San Paolo Savona ASL 2

Scopo del lavoro

L'antibiotico resistenza dei batteri rappresenta uno dei problemi principali da affrontare per ridurre i fallimenti terapeutici, la morbilità e i costi del trattamento. Scopo del lavoro è valutare l'impatto della sorveglianza epidemiologica presso l'Ospedale San Paolo di Savona (posti letto 586).

Materiali e Metodi

Sono stati sottoposti a identificazione e antibiogramma utilizzando il sistema computerizzato "VITEK" tutti i Gram + e Gram – isolati nel corso del 2001.

Risultati

Sono stati presi in esame i seguenti dati:

1. Isolamento dei microrganismi dai materiali pervenuti alla microbiologia del laboratorio analisi (Tab. 1)
2. Antibiotico-resistenza verso *PSEUDOMONAS* (Tab. 2,3)
3. Antibiotico-resistenza verso *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* (Tab. 4,5)
4. Antibiotico-resistenza verso *STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS* (Tab. 6,7)

Discussione

L'analisi dei risultati evidenzia:

a) L'antibiotico resistenza dello *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* è sovrapponibile a quella nazionale.
b) Lo *STAPHYLOCOCCUS EPIDERMIDIS* (pur con i dovuti limiti per l'interpretazione della sua patogenicità) dimostra un preoccupante problema di multi-resistenza.
c) Nel nostro Ospedale si osserva un aumento di resistenze di *PSEUDOMONAS* nei confronti di CIPROFLOXACINA,GENTAMICINA, CEFEPIME, MEROPENEM, IMIPENEM, CEFTRIAXONE, LEVOFLOXACINA.

Conclusioni

E' importante che il Laboratorio di Microbiologia si faccia carico del problema tramite report semestrali, al fine di migliorare la prescrizione e diffondere linee guida di terapia. Pertanto si ritiene indispensabile che tra i compiti del Laboratorio di Microbiologia ci sia il continuo colloquio con i clinici delle varie U.O.
Nel nostro Ospedale, con l'introduzione del sistema computerizzato "VITEK", si è avviata la diffusione di report semestrali sugli isolamenti e le antibiotico/resistenze.
Questo ha permesso di:

- Avviare un programma di razionalizzazione dell'antibiotico-terapia nella popolazione batterica del nostro ospedale;
- Affinare le linee guida già esistenti per l'antibiotico-profilassi chirurgica;
- Indirizzare meglio le scelte e la durata dell'antibiotico terapia empirica e ragionata.

E-03

SENSIBILITA' IN VITRO AGLI ANTIBIOTICI DI CEPPI DI STREPTOCOCCUS AGALACTIAE ISOLATI DA PRELIEVI VAGINALI

M. Moretti, M.G. Ghiandoni, G. Ciaschini, P. Notaris, A. Servadio, B. Pieretti, E. Delprete.
Laboratorio Analisi Chimico Cliniche e Microbiologiche, Ospedale Santa Croce di Fano ASL 3.

Scopo del lavoro

Revisionare i dati relativi alla sensibilità agli antibiotici dei ceppi di Streptococcus agalactiae (streptococco di gruppo B) isolati da tamponi vaginali nel periodo gennaio 2000-maggio 2002; concordare con ginecologi e neonatologi un percorso diagnostico terapeutico tale da ridurre al minimo la mortalità-morbilità neonatale da streptococcus agalactiae.

Lo streptococcus agalactiae è uno dei più importanti agenti responsabili di infezioni neonatali. L' infezione è generalmente contratta al momento del parto essendo lo streptococcus agalactiae un frequente commensale del microbiota vaginale. I quadri clinici a carico del neonato che possono seguire all'infezione sono distinti in una sindrome polmonare acuta (esordio 2-3 giorni dalla nascita) accompagnata o meno da sepsi e/o meningite e in una sindrome tardiva (esordio 1-2 mesi dalla nascita) caratterizzata da meningite con bassa letalità ma responsabile di gravi reliquati neurologici.

Materiali e Metodi

La nostra indagine è stata condotta su un totale di 5124 tamponi vaginali eseguiti nel periodo gennaio2000- maggio 2002.Il tampone è seminato su tre terreni di coltura: Columbia CNA Blood agar e Tayer Martin agar (crescita per 24 ore a 37° in CO2), Sabouraud (crescita per 24 ore a 37° in aerobiosi).

L'utilizzo di Columbia CNA Blood agar permette di evidenziare colonie beta emolitiche sulle quali è eseguita la tipizzazione sierologica con Slide Strepto-Kit (bioMèrieux) kit di agglutinazione al lattice.

L' antibiogramma è stato eseguito su sistema automatizzato Vitek (bioMèrieux) utilizzando la card GPS (Gram positive susceptibility) 516 specifica per l' antibiogramma dei cocchi Gram positivi.

Risultati

I risultati ottenuti sono riportati nella tabella seguente suddivisi in campioni anno, numero di isolamenti e percentuale di sensibilità agli antibiotici testati.

			percentuale di sensibilità											
ANNO	campioni	positivi	ampicillina	cefalotina	clindamicina	eritromicina	fosfomicina	imipenem	nitrofurantoina	PenicillinaG	piperacillina	teicoplanina	tetraciclina	Vancomicina
2000	2656	328	96	97	92	89	84	100	99	97	100	100	24	100
2001	1907	410	97	96	86	87	76	100	99	97	100	100	19	100
2002	559	195	98	98	89	84	76	100	100	98	100	100	20	100

Discussione e conclusioni

L'isolamento di streptococcus agalactiae da tampone vaginale è frequente facendo questo spesso parte del microbiota vaginale. I dati forniti dall'antibiogramma (che è la card per cocchi Gram positivi e non la card specifica per lo streptoccocus agalactiae) testimoniano una completa sensibilità verso imipenem*, piperacillina, teicoplanina*, vancomicina*. Sono eccezioni i casi di resistenza ad ampicillina, cefalotina*, nitrofurantoina*, penicillina G mentre sono in una percentuale più alta inefficaci in ordine clindamicina*, eritromicina, fosfomicina* e le tetracicline*. Gli antibiotici contrassegnati con l'asterisco non sono refertati.

Per tutte le molecole testate non si riscontrano variazioni circa la sensibilità' nei diversi periodi analizzati anche se la intervallo dell'indagine è troppo ravvicinato per trarre conclusioni da questo dato.

Nel periodo considerato non ci sono stati casi di infezione neonatale da streptococcus agalactiae anche grazie alla stretta collaborazione tra le figure professionali coinvolte (microbiologo, ginecologo e neonatologo), alla rapidità della refertazione dei positivi e soprattutto alla profilassi con ampicillina.

Considerata la costante sensibilità dello streptococcus agalactiae nei confronti delle penicilline e ampicillina, l' antibiogramma verrà eseguito solo per le pazienti gravide con forme allergiche alle penicilline, come suggerito dalle linee guida del GLAMST.

E-04

PRESENZA DI BACILLI ALCOL-ACIDO RESISTENTI IN CAMPIONI DI ESCREATO ED URINA NELL'ARCO DEL BIENNIO 2000/2001

G.I. Potente , R.A. Leone , P. Minchella , S. Nisticò , M. Camerino , C. Folino , M. Piccoli , C. Cosentino

U.O. di Microbiologia e Virologia A.S. n° 6 Lamezia Terme (CZ)

Introduzione

La malattia tubercolare rappresenta ancora oggi, in tutto il mondo, un rilevante problema di sanità pubblica. Infatti, anche se si è avuta subito dopo la scoperta dei farmaci antitubercolari ed il miglioramento delle condizioni socio-economiche una prima fase di diminuzione della malattia, alla fine degli anni ottanta i casi di tubercolosi non solo non erano diminuiti, ma anzi aumentati. La malattia tubercolare si conferma, quindi, un fenomeno grave non solo nei paesi in via di sviluppo, ma anche nei paesi industrializzati dove l'aumentare dell'età media ed alcune patologie molto diffuse come diabete, epatopatie croniche, neoplasie ed immunodeficienze, fanno di tale malattia un problema riemergente.

Obiettivi

Abbiamo voluto valutare, nella nostra area geografica, la percentuale di campioni, provenienti dalle vie respiratorie e urinarie, positivi per la ricerca di bacilli alcol-acido resistenti.

Materiali e metodi

Nel biennio 2000/2001 è stata eseguita la ricerca di bacilli alcol-acido resistenti in pazienti con sospetto clinico di tubercolosi delle vie urinarie (n°138) e delle vie respiratorie (n°181), , per un totale di 957 campioni (urine ed escreato). I campioni di escreato ed urina sono stati raccolti in contenitore sterile per tre giorni consecutivi secondo il seguente schema:

- escreato emesso al mattino ed in quantità non inferiore a 5 ml;
- urine emesse al mattino ed in quantità non inferiore a 50 ml.

Dai campioni di espettorato è stato allestito, in doppio, uno striscio su vetrino; per i campioni di urina è stato utilizzato il sedimento, ottenuto dopo centrifugazione a 2500 rpm per 30 minuti. I vetrini così ottenuti sono stati essiccati all'aria, fissati alla fiamma e successivamente colorati secondo metodo di Ziehl-Neelsen (*Ziehl-Neelsen kit* Diagnostic International Distribution); la lettura al microscopio ottico è stata effettuata con obiettivo 100x. L'esame colturale è stato eseguito, dopo decontaminazione e fluidificazione dei campioni con un kit del commercio (*Snap'n digest* Diagnostic International Distribution), sia in terreno solido (in doppio) (*Lowenstein-Jensen medium* Biolife) che in terreno liquido (*MGIT* Beckton-Dickinson). Il controllo dell'eventuale crescita è stato verificato settimanalmente, per un periodo di otto settimane.

Dalle colture risultate positive, per confermare la presenza di bacilli alcol-acido resistenti, sono stati allestiti dei vetrini colorati secondo Ziehl-Neelsen.

Risultati e conclusioni

Dei 138 pazienti indagati per sospetta infezione delle vie urinarie 5 sono risultati positivi (3.65%), sia alla ricerca batterioscopica che all'esame colturale; dei 181 pazienti con sospetta tubercolosi polmonare 3 sono risultati positivi (1.7%), sia alla ricerca batterioscopica che all'esame colturale.

I dati ottenuti confermano che la presenza di bacilli alcol-acido resistenti in campioni di escreato ed urina si riscontra in un numero rilevante di casi sospetti, anche per la presenza di pazienti extracomunitari stabilmente residenti nella nostra area geografica.

E-05

INFEZIONE DA CLOSTRIDIUM DIFFICILE IN PAZIENTI RICOVERATI IN UN REPARTO DI RIABILITAZIONE GERIATRICA

L.Scaglia*, S.Frugoni°, G.Presta*, N.Formiconi* R.Bagnoli*, A.Berlusconi °

° Laboratorio Analisi Chimico Cliniche e Microbiologia, * IVª U.O.C. di Riabilitazione Geriatrica
Istituto Geriatrico "Pio Albergo Trivulzio" – Milano

Scopo del lavoro

Lo scopo del nostro lavoro è stato quello di valutare, nei pazienti ricoverati presso un reparto di Riabilitazione Geriatrica e provenienti dagli Ospedali dell'area milanese, le infezioni intestinali da Clostridium difficile produttore di tossina A e di rilevare i fattori di rischio associati alla terapia antibiotica (AAD), il tempo intercorso tra il ricovero e l'inizio dei sintomi e la comorbilità dei pazienti.

Materiali e Metodi

Nel periodo 1 gennaio-30 giugno 2002, sono stati studiati 28 (22%) pazienti sintomatici per diarrea, d'età compresa tra 71 e 95 anni (media 84,1), di 126 ricoverati presso il Reparto Mandelli dell'Istituto Pio Albergo Trivulzio di Milano provenienti dagli Ospedali dell'area milanese. Per ogni paziente sintomatico è stata compilata una scheda epidemiologica riportante i dati anamnestici, i fattori di rischio e la scala di valutazione della comorbilità (C.I.R.S.); per l'isolamento del Clostridum difficile (CD) è stato utilizzato il terreno selettivo CD agar (bioMérieux), per la ricerca della tossina A e dell'antigene glutammato deidrogenasi (GDH) è stato utilizzato il test immunoenzimatico rapido Triage (Bioside).

Risultati

Dei 28 casi indagati, 11(39%) sono risultati negativi sia alla ricerca della tossina A sia all'esame colturale; in 8 (72%) di questi è stata rilevata la presenza della GDH. 17 (60%) sono risultati positivi per Tossina A e per GDH, e per 7 (41%) di questi anche l'esame colturale è risultato positivo. Dei 17 pazienti con diarrea da CD, 3 (18%) erano in terapia antibiotica al momento della rilevazione; in 5 (29%) pazienti la diarrea è comparsa, invece, entro 7 giorni dalla sospensione della terapia antibiotica; dei rimanenti 9 (53 %) pazienti senza terapia antibiotica, 3 (33%) hanno presentato sintomatologia diarroica entro il terzo giorno dal ricovero, 6 (66%) dopo circa un mese di ricovero. L'indice di severità era inferiore a 1,5 in 3/11 (27%) dei pazienti negativi e in 2/17 (11,7%) dei positivi; l'indice di comorbilità era di 2 per 3/11 (27%) pazienti nel gruppo dei negativi e 1/17 (6%) dei positivi, i rimanenti 16 (94%) casi positivi, infatti, presentavano concomitanza di 3 o più patologie di rilievo clinico.Tutti i pazienti con diarrea da CD trattati con Vancomicina per os hanno avuto risoluzione della diarrea e, al controllo microbiologico effettuato a 24 ore dall'inizio della terapia, negativizzazione della tossina A.

Discussione e Conclusioni

Tra i pazienti ricoverati nel periodo dello studio, la prevalenza di diarrea è stata del 22%. Nel 60% di questi casi si è rilevata un'infezione da C.difficile associata nel 57% dei pazienti alla terapia antibiotica (AAD). Per i rimanenti casi positivi devono essere presi in considerazione altri fattori di rischio quali la gravità delle condizioni cliniche dei pazienti, indicata da elevato punteggio degli indici di severità e comorbilità (CIRS), e la pregressa ospedalizzazione (3 casi d'insorgenza della diarrea entro il terzo giorno dal ricovero).La presenza di Glutammato deidrogenasi rilevata nel 72% dei soggetti sintomatici ma negativi per la Tossina A, enfatizza l'importanza dell'alterata flora intestinale con conseguente colonizzazione da Clostridium difficile nella popolazione in studio. In conclusione, i risultati di quest'indagine indicano che la ricerca della Tossina A del C.difficile deve essere richiesta in tutti i casi di diarrea dei pazienti anziani, ad elevato grado di comorbilità e che non deve essere necessariamente correlabile alla sola terapia antibiotica.

E-06

PROBLEMI NELLA VACCINAZIONE CONTRO LA TBE: UN'ESPERIENZA NEL FELTRINO

Grazioli D., Battistel M.°, Papa N.°, Bertiato G.°

Dipartimento di Prevenzione ULSS 2 del Veneto di Feltre
°Laboratorio Analisi, Ospedale "San Martino", ULSS 1 di Belluno

Tra i virus trasmessi da zecche in Italia il più importante in patologia umana è il virus dell'encefalite (TBEV). La presenza di TBE è nota in Italia fin dagli anni '70 per un focolaio di importazione in Toscana. Negli anni '90 sono stati evidenziati focolai in Trentino e in Provincia di Belluno sulla base di isolamento del virus da zecche raccolte in loco e analizzate dall'Istituto Superiore di Sanità.
La diagnosi di infezione nell'uomo viene in genere affidata all'evidenziazione degli anticorpi specifici con tecniche di neutralizzazione, fissazione del complemento, inibizione dell'emoagglutinazione e saggi immunoenzimatici (ELISA). La ricerca degli anticorpi viene utilizzata anche per studiare la risposta nei soggetti sottoposti a vaccinazione. Si va, comunque, estendendo l'uso di tecniche di biologia molecolare.

Scopo della ricerca. Il Servizio di Medicina Preventiva dell'ULSS n° 2 di Feltre ha iniziato dal 1995 la vaccinazione di persone a rischio di infezione per lavoro (forestali, guardiacaccia, dipendenti di Enti pubblici territoriali, etc.). Lo studio intendeva verificare l'efficacia del vaccino e l'andamento delle sieroconversioni. Il vaccino utilizzato è l'FSME IMMUN Inject fornito dalla ditta Baxter Hyland Immuno. La pratica vaccinale prevede la somministrazione intramuscolare di tre dosi (la seconda dopo uno-tre mesi dalla prima, la terza dopo nove-dodici mesi). La schedula prevede inoltre un richiamo dopo tre anni dal ciclo di base. Per verificare l'efficacia della vaccinazione, è previsto il prelievo prima di ogni singola inoculazione per l'evidenziazione della risposta anticorpale. Sulla base dei dati ottenuti, a distanza di alcuni mesi venivano effettuate le dosi di richiamo.

Materiali e metodi. Nel corso del 1995-2000 sono stati vaccinati 99 operatori esposti al rischio di contatto con TBEV trasmesso da zecche. Si trattava in prevalenza di maschi (85%) e di 11 donne, di età compresa tra i 24 e 69 anni. Sono stati esaminati 79 sieri prima della prima dose, 37 prima della seconda dose, 34 prima della terza, 69 tra due mesi ed un anno dopo la terza e 28 prima del primo richiamo. I titoli anticorpali sono stati ottenuti con i reattivi TBE-ELISA Immunozyme (FSME) commercializzati dalla ditta Immuno per la ricerca delle IgG e IgM specifiche.

Risultati. I soggetti risultavano essere tutti negativi prima della vaccinazione. Dopo la prima dose, delle trentasette persone studiate, quattro hanno prodotto anticorpi specifici (10%). Dopo la seconda dose si è documentata nuova sieropositività in diciotto persone (53%) mentre 16 risultavano ancora negative (47%). Dopo la terza dose, solo quattro casi non avevano siero-convertito. Di questi uno divenne positivo dopo un anno a seguito di un richiamo, due risultati negativi con la tecnica ELISA dimostrarono positività al Western Blot, uno dopo un secondo richiamo. In due casi con abbassamento del titolo, a distanza di quattro anni dalla dose iniziale e in due dalla terza dose l'effettuazione di una o due ulteriori dosi ha portato ad un rialzo del titolo anticorpale.
Gli effettuali collaterali sono risultati minimi: in alcuni casi è stato riferito dolore per qualche giorno nella sede di inoculazione del vaccino.

Discussione e conclusioni. In linea generale il vaccino ha confermato una buona capacità di indurre la risposta anticorpale a titolo significativo dopo il ciclo di base.
In alcuni casi, per motivi non chiariti, si sono verificate delle iporisposte dopo la prima e la seconda dose. Fenomeno, comunque, già noto al produttore in quanto la schedula consiglia, in questi casi, una eventuale "2° dose bis".
Sembra quindi opportuno consigliare di fare sempre un dosaggio anticorpale quattro settimane dopo la 2° dose ed eventualmente praticare la "2° dose bis" negli iporesponsivi per evitare che questi soggetti si sentano falsamente protetti se devono operare in zone ad alto rischio di TBE.

E-07

PRESENZA DI *Babesia* IN *Ixodes ricinus* NEL BELLUNESE

Lorenzato C., Piccolin G., Porta V., Benedetti G., Doglioni C., Mancuso S., Bertiato G.
Osservatorio per lo studio, la sorveglianza e la prevenzione delle infezioni trasmesse da zecche
Centro Regionale di riferimento per la diagnostica delle malattie trasmesse da zecche
ULSS n. 1 del Veneto – Belluno

La babesiosi, infezione causata da parassiti intraeritrocitari del genere *Babesia*, è una nota patologia di importanza veterinaria che colpisce bestiame, cavalli e cani. Sulla babesiosi deve essere, però, richiamata l'attenzione quale emergente malattia trasmessa all'uomo dalle zecche. Il primo caso umano venne documentato nel 1957 in un agricoltore in Iugoslavia. Tre diverse babesie sono state riconosciute come agenti primari di malattie nell'uomo. In Europa sono stati descritti 31 casi di infezione umana attribuiti a *Babesia divergens*. Fino al 1982 negli Stati Uniti sono stati riportati più di 200 casi dovuti a *Babesia microti* e sette casi al tipo WA1.

Scopo del lavoro. L'Osservatorio per lo studio , la sorveglianza e la prevenzione delle infezioni trasmesse da zecche, istituito dall'ULSS n. 1 del Veneto, ha condotto negli anni 2000-2001 una campagna di raccolta di tali parassiti in alcune aree del Bellunese. Ciò come indagine preliminare ad un più ampio monitoraggio che permetta, anche attraverso l'utilizzo di un sistema geografico informatizzato (GIS) di tracciare le mappe di rischio di contatto con i parassiti trasmettitori e la presenza in essi degli agenti patogeni.

Materiali e metodi. Sono state esaminate 980 zecche nei vari stadi di larve, ninfe e adulti, maschi e femmine. I prelievi sono stati effettuati nel corso del 2001 in siti di campionamento rappresentativi di una suddivisione per classi omologhe del territorio provinciale. Le zecche venivano raccolte con il metodo della "coperta strisciata" (*draggin sample*) e conservate in alcool etilico al 70% a 4°C. Gli estratti di DNA, ottenuti con il metodo del fenolo/cloroformio per gli adulti e con il metodo di Schoultz per ninfe e larve, sono stati amplificati dapprima con i *primer 16a/16b* specifici per il DNA mitocondriale di *Ixodes*, come controllo della fase di estrazione (*Matuschka, 1996*) e quindi con i *primer PIRO-A* e *PIRO-B* che amplificano una regione del gene 16S rRNA di *B. odocoilei*, *B. divergens* e *B. microti* (*Armstrong, 1998*).

Risultati. Delle 980 zecche analizzate 16 esemplari (1,63 %) sono risultati positivi per *Babesia* , 11 ninfe, 3 femmine, 2 maschi. La ricerca sulle larve ha dato esito negativo.
Le zecche positive sono state riscontrate in 13 dei 174 siti di campionamento (7,5%).

Discussione e conclusioni. La ricerca diretta, mediante PCR, di *Babesia* in esemplari di *Ixodes ricinus* raccolti nell'area bellunese è risultata positiva con un tasso di prevalenza relativamente basso, inferiore a quello dimostrato in *I. ricinus* per *B. microti* (7,4%) in Slovenia (*Petrovec, 2001*) e in *I. scapularis* in USA (*Varde, 1998*).
Il numero di casi riportati di babesiosi umana trasmessa da zecche risulta inferiore a quello di Malattia di Lyme probabilmente perchè *B. microti* produce infezioni subcliniche (*Persing, 1992*). Nel Bellunese non risulta siano stati descritti casi di babesiosi nell'uomo.

E-08

PRESENZA DI *Rickettsia* IN *Ixodes ricinus* NEL BELLUNESE

Piccolin G., Lorenzato C., Porta V., Benedetti G., Doglioni C., Mancuso S., Bertiato G.
Osservatorio per lo studio, la sorveglianza e la prevenzione delle infezioni trasmesse da zecche
Centro Regionale di riferimento per la diagnostica delle malattie trasmesse da zecche
ULSS n. 1 del Veneto – Belluno

Il genere *Rickettsia* è stato recentemente classificato in tre gruppi di batteri, strettamente intracelllulari, denominati "typhus group" (TG), "spotted fever group" (SFG) e "scrub typhus group" (STG). La classificazione di specie si basa sulla distribuzione geografica, l'artropode ospite, la localizzazione intracellulare, la struttura dell'"envelope", le condizioni di coltura e i tipi sierologici. Le rickettsie del gruppo STG sono in genere trasmesse da zecche. In Europa da *Ixodes ricinus* sono state isolate *R. helvetica* in Svizzera, Francia, Slovenia e Svezia, *R. slovacca* in Russia e *R. conorii* in Francia.

Scopo del lavoro. L'Osservatorio per lo studio , la sorveglianza e la prevenzione delle infezioni trasmesse da zecche, istituito dall'ULSS n. 1 del Veneto, ha condotto negli anni 2000-2001 una campagna di raccolta di tali parassiti in alcune aree del Bellunese. Ciò come indagine preliminare ad un più ampio monitoraggio che permetta, anche attraverso l'utilizzo di un sistema geografico informatizzato (GIS) di tracciare le mappe di rischio di contatto con i parassiti trasmettitori e la presenza in essi degli agenti patogeni.

Materiali e metodi. Sono state esaminate 980 zecche nei vari stadi di larve, ninfe e adulti, maschi e femmine. I prelievi sono stati effettuati nel corso del 2001 in siti di campionamento rappresentativi di una suddivisione per classi omologhe del territorio provinciale. Le zecche venivano raccolte con il metodo della "coperta strisciata" (*draggin sample*) e conservate in alcool etilico al 70% a 4°C. Gli estratti di DNA, ottenuti con il metodo del fenolo/cloroformio per gli adulti e con il metodo di Schoultz per ninfe e larve, sono stati amplificati dapprima con i *primer 16a/16b* specifici per il DNA mitocondriale di *Ixodes*, come controllo della fase di estrazione (*Matuschka, 1996*). E' stata quindi eseguita una nested-PCR con *primer Ric-RicU8* e *Ric-RtRic* che amplificano una regione del gene 16S rRNA di *R. helvetica* (*Nilsson, 1997*).

Risultati. Delle 980 zecche analizzate 16 esemplari (1,63%) sono risultati positivi per *Rickettsia*, 12 ninfe, 2 femmine, 2 maschi. La ricerca sulle larve ha dato esito negativo.
Le zecche positive sono state raccolte in 18 dei 174 siti di campionamento (10,3%).

Discussione e conclusioni. *Ixodes ricinus* è largamente presente in Europa, inclusa l'Italia, e attacca frequentemente l'uomo. Di conseguenza la trasmissione potenziale di rickettsie all'uomo attraverso *Ixodes* sembrava probabile, ma la sua capacità patogena è rimasta incerta fino a che nel 1999 Nilsson ed altri hanno dimostrato il ruolo di *R. helvetica* nello sviluppo di perimiocardite e morte improvvisa in due giovani pazienti. I tassi riportati in letteratura di prevalenza di rickettsie del gruppo SFG variano molto, anche fino al 50%, in raccolte di zecche effettuate in diverse parti del mondo.
I nostri risultati confermano che le rickettsie possono essere presenti in *Ixodes ricinus,* e devono essere prese in considerazione nella diagnosi delle infezioni trasmesse da zecche.

E-09

RICERCA DI *Borrelia burgdorferi* SU CAMPIONI BIOLOGICI UMANI MEDIANTE ESAME COLTURALE E TECNICHE DI BIOLOGIA MOLECOLARE

Papa N., Battistel M., Granata C.°, Guzzo F.°, Lorenzato C., Mondardini V.°, Piccolin G., Zasio C., Francavilla E.°, Bertiato G.

Laboratorio di Analisi Chimico-Cliniche e di Microbiologia, Ospedale "San Martino"
Centro Regionale di riferimento per la diagnostica delle malattie trasmesse da zecche
°Malattie Infettive, Ospedale "San Martino"
ULSS n. 1 del Veneto – Belluno

I problemi diagnostici posti dalla Borreliosi di Lyme sono stati affrontati a Belluno fin dai primi anni '90 sia con tecniche di diagnosi diretta che indiretta, tanto che presso la Divisione di Malattie Infettive dell'Ospedale "San Martino" dal gennaio 1992 all'ottobre 2001 sono stati diagnosticati 536 casi di Malattia di Lyme. In tale periodo erano state prelevate per l'esame microbiologico 313 biopsie da zone di eritema cutaneo, e l'esame colturale aveva portato all'isolamento di 128 ceppi di *Borrelia burgdorferi* con una percentuale di positività delle prove del 40,89%.

Scopo del lavoro. Il nostro studio si proponeva di verificare l'efficacia diagnostica dell'introduzione delle tecniche di biologia molecolare nello studio dei campioni biologici inviati nel corso del 2001 al Laboratorio dell'Ospedale "San Martino" di Belluno e di comparare i dati ottenuti con tale tecnica con i risultati del tradizionale esame colturale. Tale confronto poteva risultare ancor più significativo dato che nel 2001 era stata decisa la sostituzione del terreno BSKII col Modified Kelly Pettenkofer..

Materiali e metodi. Sono state esaminate con la tecnica della *Polymerase Chain Reaction* (PCR) 74 campioni inviati per la ricerca di *Borrelia burgdorferi*. Le 62 biopsie cutanee e i 12 liquidi cefalorachidiani provenivano da pazienti giunti all'osservazione nel corso dell'anno con quadri clinici compatibili con Morbo di Lyme.
Per l'estrazione del DNA sono stati utilizzati il metodo del fenolo/cloroformio per i campioni bioptici, e il metodo rapido di denaturazione termica per i liquidi organici. Gli estratti di DNA sono stati amplificati dapprima con i *primer c/c'* specifici per *B. burgdorferi sensu lato* (*Rosa, 1991*). I campioni risultati positivi sono stati successivamente tipizzati con i *primer MC16, MC25 e MC33* (*Misonne, 1998*) specie specifici per le borrelie considerate patogene per l'uomo.

Risultati. L'indagine mediante PCR ha consentito di evidenziare la positività per *Borrelia burgdorferi* di 48 campioni (64,86%), 47 biopsie e 1 liquor. Tale risultato confermava in 44 casi la positività dell'esame colturale (59,45%). Va sottolineato, comunque, che l'uso della tecnica PCR ha evidenziato positività in 4 campioni risultati negativi all'esame colturale.
L'analisi genotipica ha dimostrato la presenza di *B. afzelii* in 44 campioni (91,66% dei positivi) e in 2 campioni la compresenza di *B. afzelii* e *B. garinii*. In nessuno dei campioni esaminati è stata dimostrata *B. burgdorferi sensu strictu* e 2 campioni sono risultati non tipizzabili con i primer in esperimento.

Discussione e conclusioni. Il rendimento diagnostico raggiunto dal nostro laboratorio nella ricerca colturale delle borrelie risulta elevato ed è tra i più alti oggi noti, specie nel caso di biopsie cutanee. Con l'utilizzo del terreno di coltura Modified Kelly Pettenkofer il tasso di positività risulta aumentato significativamente rispetto agli anni precedenti.
L'uso in PCR di primer specifici ha permesso l'individuazione di 4 nuove positività in campioni giudicati negativi all'esame colturale, probabilmente per l'esiguo numero di microrganismi presenti.
Per quanto attiene all'indagine genotipica è noto che i dati della letteratura suggeriscono una correlazione tra genospecie e forma clinica. L'elevata prevalenza di *B. afzelii*, che conferma i dati da noi in precedenza ottenuti a Belluno, può essere collegata alle sue note caratteristiche di dermotropismo. Nel liquor è segnalata come di più frequente isolamento *B. garinii*. Sono queste le due genospecie predominanti nel contesto europeo.

E-10

IL LABORATORIO DI PATOLOGIA CLINICA NELL' INFEZIONE DA HBV : UNO STUDIO DI INCIDENZA IN QUATTRO CENTRI OSPEDALIERI IN PROVINCIA DI BRINDISI

Laneve M.[a], Capuano A.M. [b], Cornacchiulo V.[a], D'Angeli M. [b], Scianaro A.[a], Vinci E.[a]
[a] Dipartimento di Medicina di Laboratorio A.USL BR/1 , [b] Servizio Trasfusionale A.USL BR/1

Scopo del lavoro

Nel nostro lavoro ci siamo proposti di definire il grado di incidenza della infezione da HBV, mediante il dosaggio dell' HBsAg, nella nostra popolazione della provincia di Brindisi. L'epatite da HBV rappresenta tutt'ora, malgrado l' introduzione di un vaccino immunogeno ed efficace, una patologia di rilevanza sociale per la difficoltà di approccio terapeutico e per la sua evoluzione,nel caso di cronicizzazione, verso patologie gravi. Si stima che siano approssimativamente 300 milioni i portatori cronici del virus nel mondo. Il virus responsabile appartiene alla famiglia delle Hepadnaviridae che necessitano per la loro replicazione della trascrittasi inversa ed è una particella sferica del diametro di 47 nm (particella di Dane). Il virus consiste in un rivestimento esterno formato dall' antigene di superficie (HBsAg), un nucleocapside formato dall'antigene "core" (HBcAg) e dall' antigene "e" (HBeAg), un genoma a DNA circolare costiuito da 3200 nucleotidi, in parte appaiati ed in parte singoli. Variazioni nelle sequenze nucleotidiche possono determinare varianti del virus.

Materiali e Metodi

Il nostro studio è stato effettuato nell' anno 2001 presso il Laboratorio di Patologia Clinica (Lab.) del Presidio Ospedaliero (P.O.) di Ceglie M. -BR- (1), il Lab. del P.O. di Fasano -BR- (2), il Lab. del Servizio Trasfusionale (S.T.) del P.O. di Francavilla Fontana -BR- (3), il Lab. del S.T. del P.O. di Ostuni (4). L'indagine è stata condotta su pazienti (pz.) pervenuti ai nostri Lab.,nel corso del 2001, come ricoverati, ambulatoriali esterni o donatori. Abbiamo utilizzato i seguenti analizzatori automatici: COBAS CORE (ROCHE), AXYM (ABBOTT) , ETIMAX (DIASORIN) che sfruttano metodiche immunometriche (EIA) di terza generazione; gli anticorpi anti-HBs , fissati ad una fase solida, catturano l' HBsAg eventualmente presente nel campione in esame ed il legame è rivelato dall' aggiunta di anti-HBs marcato. Falsi positivi sono spesso causati da legami aspecifici tra IgG sieriche e la fase solida.

Risultati

Complessivamente abbiamo esaminato 17326 pz. di cui 2180 presso il Lab. 1, 2079 presso il Lab. 2, 6417 presso il Lab. 3, 6650 presso il Lab. 4 ed abbiamo rilevato i dati riportati nella seguente tabella :

Laboratorio di Patologia Clinica	Numero dei Pazienti	Numero di HBsAg Positivi e %
Lab. 1	2180	45 (2,06 %)
Lab. 2	2079	42 (2,02 %)
Lab. 3	6417	132 (2,06 %)
Lab. 4	6650	128 (1,92 %)

Discussione e Conclusioni

Dai dati raccolti possiamo desumere che l'incidenza della infezione da HBV nella popolazione studiata oscilla tra l' 1,92 e il 2.06 %; ciò ci induce a sottolineare l' importanza del Lab. nella prevenzione ed il controllo della infezione da HBV .

E-11

L'Osservatorio Microbiologico dell'Ospedale di Rovereto: il Laboratorio

Gualdi P[1], Calì AM[1]1, Schinella M[1], Mariotti G[2]
[1]*Laboratorio di Chimica Clinica e Microbiologia,* [2]*Direzione Medica di Presidio Ospedaliero, Ospedale di Rovereto, piazzale S.Maria, 38068 Rovereto (TN);*

Introduzione

L'incremento su scala mondiale delle resistenze agli antibiotici è divenuto, durante gli ultimi anni, un serio problema evidenziato dalla letteratura scientifica ma anche dai comuni canali di informazione. La dimensione di questo problema è globale ma, per raggiungere soluzioni efficaci, sono necessari interventi che si adattino in modo specifico alle situazioni e alle abitudini terapeutiche locali. Lo studio dinamico dell'epidemiologia delle resistenze agli antimicrobici condotto a livello locale permette al clinico di utilizzare informazioni reali per effettuare, anche nel caso di terapie empiriche, scelte terapeutiche idonee e ragionate.

Questa consapevolezza ha spinto il Laboratorio Analisi Chimico-Cliniche e Microbiologia dell'Ospedale S.Maria del Carmine ad implementare un osservatorio epidemiologico locale.

Gli obiettivi di questo progetto si configurano in:

a. sorveglianza dell'andamento delle resistenze agli antibiotici a livello locale ed eventi sentinella
b. promozione della diffusione di tali dati per sensibilizzare operatori sanitari e cittadini ad un consumo e ad un uso appropriato degli antibiotici
c. stimolazione ad un approccio consapevole nei confronti dell'ecosistema batterico

Materiali e metodi

Il primo passo è stato la progettazione e la realizzazione di una pubblicazione denominata "L'Osservatorio Microbiologico". Si tratta di un report epidemiologico che riassume i dati relativi agli isolamenti microbiologici rispetto ai materiali di più frequente richiesta e/o significatività e i dati di sensibilità e resistenza ai chemioterapici. Tale lavoro è stato elaborato relativamente ai dati ospedalieri e comunitari e distribuito ai Medici Ospedalieri, ai Medici di Medicina Generale e ai Pediatri operanti nel Distretto della Vallagarina.

Successivamente è stata attivata una stretta collaborazione con il Servizio farmaceutico ospedaliero e il Comitato per le Infezioni Ospedaliero (C.I.O.).

Risultati

In questi anni di lavoro sono stati elaborati 6 numeri dell'"Osservatorio Microbiologico", pubblicati e diffusi a cadenza semestrale realizzando l'obbiettivo *a* del progetto. Si è costruita una rete locale di comunicazione per far giungere, in via cartacea e telematica, ad ogni medico di medicina generale ed ospedaliero la mappatura delle resistenze di tutta la popolazione e non solo dei propri assistiti (obiettivo *b*). In collaborazione con la Farmacia ospedaliera, si è realizzato un controllo incrociato fra i dati così rilevati e il consumo globale di antibiotici allo scopo di sensibilizzare gli operatori sanitari ad un loro consumo ed uso più appropriato. La contemporanea attivazione del Gruppo Operativo del C.I.O. dell'Ospedale di Rovereto ha permesso l'avvio di una serie di incontri di aggiornamento con gli operatori sanitari (medici e infermieri) per stimolare un approccio più consapevole all'ecosistema batterico e approntare i protocolli di profilassi antibiotica (obiettivo *c*).

Discussione

Lo studio dinamico dell'epidemiologia delle resistenze agli antimicrobici condotto a livello locale permette al clinico di utilizzare informazioni reali per effettuare, anche nel caso di terapie empiriche, scelte terapeutiche più idonee e ragionate. Il laboratorio di microbiologia costituisce di sicuro un osservatorio privilegiato per il monitoraggio dei profili di antibiotico-resistenza; l'enorme mole di dati disponibili, per poter essere correttamente utilizzati per la costruzione di un report epidemiologico, deve essere organizzato in modo da garantire: raggruppamento dei campioni in gruppi omogenei, definizione di periodi omogenei di osservazione, significatività degli isolati clinici, modalità di selezione dei duplicati

L'ottimale utilizzo e valorizzazione dei report epidemiologici non può prescindere dalla stretta collaborazione tra Laboratorio, Farmacia, Unità operative e C.I.O.

E-12

E' UTILE AFFIANCARE AL TEST DI SCREENING PER LA RICERCA DI ANTICORPI IgG ANTI-HELICOBACTER pylori IL TEST PER LA RICERCA DI ANTICORPI ANTI CagA NEI PAZIENTI DISPEPTICI ?

NISTICO' S., LEONE R.A., MINCHELLA P., POTENTE G.I., FOLINO C., COSENTINO C.
U.O. Microbiologia e Virologia, A.S. n° 6 Lamezia Terme (CZ)

Introduzione

La colonizzazione della mucosa gastrica da parte di *Helicobacter pylori* (H.p.) induce, oltre che una risposta immunitaria locale, anche una reazione anticorpale sistemica con produzione di immunoglobuline specifiche di classe IgG ed IgA. L'indagine sierologia, con la determinazione qualitativa delle IgG specifiche, è generalmente utilizzata come test di screening nei pazienti dispeptici con sospetta infezione da H.p., per stabilire se eseguire o meno l'indagine endoscopica. La determinazione quantitativa degli anticorpi anti-citotossina (anti-CagA) è considerata di solito un test di approfondimento diagnostico (secondo livello), da effettuare soltanto nei pazienti con risultati positivi o dubbi al test di screening.

Obiettivi

Valutare se il solo test sierologico di screening per la determinazione di IgG anti-H.p. è sufficiente per escludere, in caso di risultato negativo, ulteriori indagini di approfondimento nei pazienti che, comunque, manifestano una chiara sintomatologia dispeptica.

Materiali e Metodi

Sono stati testati 276 sieri di pazienti dispeptici per la ricerca di anticorpi anti-H.p. con metodo immunoenzimatico ELISA (Helori IgG, EUROSPITAL) che utilizza, come antigeni adesi alla fase solida, le subunità dell'ureasi (p-66 e p-31), la flagellina (p-51), la proteina vacuolizzante (p-87) e la citotossina (p-120) estratti con detergenti non ionici dal ceppo citotossico "HP CCUG 17874". Gli stessi sieri sono stati testati anche per la ricerca di anticorpi anti-CagA, con un metodo immunoenzimatico ELISA (Helori CTX, EUROSPITAL) che utilizza come antigene la stessa citotossina presente nel test di screening.

Risultati e Discussione

Da un esame complessivo delle determinazioni effettuate è risultato: n° 100 sieri negativi anti-IgG H.p./negativi anti-CagA, n° 98 positivi anti-IgG H.p./positivi anti-CagA, n° 45 positivi anti-IgG H.p./ negativi anti-CagA, n° 14 valore dubbio anti-IgG H.p./positivi anti-CagA; n° **19 "negativi"** anti-IgG H.p./**"positivi"** anti-CagA: quindi il **6,8%** dei campioni esaminati ha dato un **"risultato discordante"**. In attesa di ulteriori approfondimenti diagnostici con metodica immunoblotting sui sieri discordanti, nonché dei risultati ottenuti sui pazienti con l'indagine endoscopica e con la ricerca immunoenzimatica degli antigeni di H.p. nelle feci, riteniamo utile, per il momento, affiancare al test di screening anti-IgG H.p. il test per la determinazione degli anticorpi anti-CagA, in tutti i pazienti dispeptici che si sottopongono per la prima volta all'indagine sierologica.

E-13

IL LABORATORIO NELLA DIAGNOSTICA DELLE INFEZIONI DA VIRUS DI EPSTEIN-BARR

E. Mainardi, E. Cancellieri, L. Cresci, L. Fava, L. Mantovani, A. Montanelli
Dipartimento di Patologia Clinica, Laboratorio Analisi A.O. "Ospedale Maggiore di Crema"

Scopo del lavoro

Il virus di Epstein-Barr è l'agente eziologico della Mononucleosi Infettiva , malattia spesso asintomatica e autolimitantesi, ma talvolta associata a decorso cronico o a condizioni neoplastiche.
Il test sierologico di elezione per l'EBV è la ricerca degli anticorpi con l'Immunofluorescenza Indiretta; questa tecnica, in quanto gravata da soggettività interpretativa e da costi elevati, è stata sostituita , nella maggior parte dei casi, da procedure ELISA che hanno migliorato le prestazioni diagnostiche in termini di tempo e di costi, ma non in termini di sensibilità e specificità.
Nel nostro lavoro abbiamo valutato due kit immunoenzimatici del commercio su campioni di siero appartenenti a soggetti col sospetto clinico di Mononucleosi Infettiva. La valutazione dei materiali diagnostici impiegati è stata ottenuta confrontando i risultati di ciascun kit con quelli dell'indagine sierologia in Western Blot (assunta come gold standard).

Materiali e metodi

Campioni : 25 campioni di siero da sieroteca, provenienti da soggetti di età tra i 2 e i 40 anni.
Materiali: tutti i campioni sono stati saggiati con i kit :

1. Enzignost anti-EBV /IgM, Enzignost anti-EBV IgG della ditta Dade-Behring che prevedeva l'impiego simultaneo degli antigeni virali (VCA,EAD,EBNA) sia per le IgM che per le IgG.
2. Premier test Elisa IgM EBV-VCA, Premier EBV-VCA IgG ELISA e Premier Elisa IgG EBNA-1 della ditta Meridian che si avvaleva di determinazioni singole e non prevedeva la ricerca dell' antigene EAD
3. Epstein –Barr virus IgG e IgM Marblot strip test system (Arnika).

Risultati

STATO IMMUNITARIO	**Dade-Behring**	**Meridian**	**Western Blot**
1. Infezione in atto	20	13	16
2. Infezione pregressa	1	10	5
3. Immunità dubbia	4	1	2
4. Negativi per EBV	0	1	2

Conclusioni

L'analisi dei dati ha evidenziato alcune discordanze tra i risultati ottenuti con i due kit ELISA e tra questi e la procedura in Western Blot (a conferma che la sensibilità e la specificità dei test immunoenzimatici utilizzati non sono ancora del tutto ottimali). D'altro canto il test assunto quale gold standard, Western Blot, ha presentato in 2 casi dfficoltà di lettura, con conseguente difficile interpretazione clinica.
La nostra esperienza suggerisce ,nei quadri sierologici non chiari, l'esecuzione di ulteriori indagini diagnostiche al fine di escludere possibili interferenze da CMV o Toxoplasmosi e invita altresì a guardare con attenzione alla presenza di anomalie biochimiche (rialzo delle transaminasi) o ematologiche (valutazione della formula leucocitaria), frequentemente riscontrabili in corso di sindrome mononucleosica, che possono completare e confermare una diagnosi che permane, ancora oggi, sostanzialmente legata a criteri clinici.

E-14

INDAGINE MICOLOGICA AMBIENTALE IN INDIVIDUI CON PRICK TEST POSITIVO

A.Gambi, B. De Laurentiis, S.Troiano, A.Rulli, S. Martinotti
Laboratorio Patologia Clinica II
Ospedale Clinicizzato "SS. Annunziata" Chieti

Scopo del lavoro:
Scopo del nostro lavoro è stata un'indagine ambientale nelle abitazioni di individui con prick test positivo per miceti, causa frequente di allergia.

Materiali e metodi:
Sono stati selezionati 30 pazienti con prick test positivo per miceti ambientali provenienti dal servizio di allergologia del nostro ospedale. A questi venivano consegnate piastre di Sabouraud da esporre durante la notte negli ambienti più frequentati della casa (camera da letto, cucina, soggiorno). Le piastre venivano riconsegnate al laboratorio la mattina seguente all'esposizione ed incubate a temperatura ambiente per 4-5 giorni. Le colonie cresciute venivano esaminate dal punto di vista morfologico e microscopico allestendo un vetrino a fresco con lattofenolo. I miceti venivano classificati in base all'aspetto della colonia sulla piastra, al tempo di crescita e all'aspetto microscopico (ife settate, strutture accessorie, micro e macroconidi).

Risultati:
Le piastre esposte negli ambienti abitati dai pazienti con prick test positivo sono risultate tutte positive per miceti ambientali; inoltre si è osservata la ripetizione della stessa specie fungina nelle diverse stanze della casa. Delle 30 case osservate 15 sono risultate positive per Alternaria alternata, 9 per Penicillium spp. e 6 per Aspergillus spp.

Discussione e Conclusioni:
Nella nostra esperienza abbiamo trovato un'ottima correlazione tra la valutazione ambientale e le prove allergologiche; questo tipo di approccio è risultato di facile esecuzione non richiedendo un particolare addestramento per l'utente da parte del laboratorio. Il basso costo, la gestibilità e la buona correlazione con le comuni allergie inducono a collocare questa indagine tra gli esami di routine eseguibili in qualsiasi laboratorio.

Bibliografia:
Ochmanski W, Barabasz W. Microbiological threat from buildings and rooms and its influence on human health (sick buildings syndrome). Przegl Lek 2000; 57(7-8):419-23.

E-15

Applicazione di un programma per la prevenzione e il controllo delle infezioni in una Residenza Sanitaria Assistenziale

I.Bianco[a], Bomba[a], M.D'Ercole[b], R.Lanci[b], A.Giangiordano[b], G.Menna[a]

[a] Laboratorio Analisi – Microbiologia Ospedale Civile "Renzetti" Lanciano (CH); [b] Responsabile medico, Responsabile infermieristico, Responsabile per la Qualità Rsa "S.Rita"S.Maria Imbaro(CH)

Introduzione: Le infezioni in comunità, soprattutto di anziani, stanno sostituendo per importanza e gravità quelle acquisite in ospedale; i motivi sono legati alle particolari caratteristiche di questi pazienti, più suscettibili a contrarre infezioni e a colonizzarsi con germi multiresistenti, al lungo tempo di istituzionalizzazione, alle frequenti terapie antibiotiche e alla mancanza di formazione del personale sulle misure minime di prevenzione delle infezioni.L'adozione di un programma di controllo delle infezioni in una residenza sanitaria, così come in ospedale, permette di acquisire informazioni sulla salute dei residenti,sul livello qualitativo dell'assistenza fornita e attuare interventi correttivi per migliorare la cura.

Realizzazione del progetto: Nel mese di Marzo 2002 è stata decisa con i responsabili della struttura sanitaria assistenziale "S.Rita" - 40 residenti,età media 81 anni, alloggiati su tre piani- la realizzazione di un sistema di sorveglianza, prevenzione e controllo delle infezioni.A tale scopo è stato istituito un gruppo di lavoro,costituito dai responsabili medico,infermieristico e del servizio qualità della struttura, da un medico microbiologo e da un tecnico di laboratorio.Il gruppo,sulla scorta di linee guida internazionali, ha identificato,programmato e realizzato una serie di interventi necessari all'attuazione del progetto:

- individuazione dei criteri per la definizione di infezioni acquisite con la cura, identificate per apparato, indicando segni, sintomi ed esami da effettuare;
- identificazione di un sistema per la raccolta e l'analisi dei dati, attraverso una scheda su cui riportare notizie cliniche,esami effettuati, ed informazioni utili allo studio, con verifiche mensili;
- stesura di un manuale, consegnato ad ogni operatore sanitario, sulle norme generali di comportamento (lavaggio delle mani, uso dei dispositivi di protezione etc.), protocolli per la pulizia e la disinfezione e norme di sicurezza per gli operatori;
- incontri di formazione con gli operatori sanitari, fortemente motivati e collaboranti, per lo sviluppo e l'implementazione di comportamenti e misure di controllo per ridurre il rischio di infezione;
- incontri di educazione con tutte le persone a diretto contatto con i residenti(familiari, volontari etc) alle norme minime di comportamento nella struttura ed alle regole elementari di igiene, rafforzate in periodi di epidemia; a questo scopo è stato riservato su ogni piano un bagno per i visitatori, con una cartellonistica esplicativa sulla necessità del lavaggio delle mani, quale importante misura di prevenzione delle infezioni e sulle corrette modalità di esecuzione.Ogni stanza è stata inoltre dotata del necessario per il lavaggio delle mani di operatori e residenti;
- incontri con i medici di base dei residenti per la diffusione del programma;
- dotazione,dalla microbiologia, di un manuale per esecuzione e conservazione dei prelievi per esami colturali, procedure per trasporto e consegna dei campioni in laboratorio tramite una corsia preferenziale;
- attuazione di una sorveglianza microbiologica sui materiali provenienti dalla struttura e un sistema di allerta per antibiotico-resistenze ed episodi epidemici, assimilandola ad un reparto ospedaliero;
- realizzazione di un'unità di isolamento, per i nuovi ingressi o i reingressi di pazienti dimessi dall'ospedale, per poter distinguere un'infezione nosocomiale da una acquisita nella struttura;

Nella realtà in cui abbiamo operato il programma è stato adattato alle necessità della struttura, rifacendosi alla logica della prevenzione attuata in ospedale e alla letteratura internazionale;non essendo stato possibile un raffronto con dati precedenti alla messa in atto del programma, è stata presa la decisione di una verifica dopo un anno sull'efficacia delle misure adottate.Resta il dato inconfutabile che le strutture sanitarie assistenziali per anziani necessitano dell'adozione di standard per la sorveglianza delle infezioni e che un programma di questo tipo costituisce un elemento fondamentale in un sistema qualità.

Bibliografia

Smith P.W., Rusnak P.G.Infection prevention and control in the long-term-care facility. *Am J Infect Control* 1997; 25:488-512 Satterfield N.Infection control in long-term-care facilities: the hospital practitioner'role. *Infect Control Hosp Epidemiol* 1993; 14:40-47

E-16

VALUTAZIONE DELL'UREA BREATH TEST CON ^{13}C NELL'INFEZIONE DA HELICOBACTER PYLORI (H.P.) IN GRUPPI FAMIGLIARI.

E. Cleopazzo , A. Mileti, V. Brescia, R. Lovero, L. Varraso, E. Girone, N. Pansini.
U.O. Patologia Clinica I, Ospedale Consorziale Policlinico Bari

Attualmente, i numerosi studi effettuati, non hanno ancora chiaramente delineato il meccanismo di trasmissione dell'infezione da H.P. all'uomo. L'ipotesi maggiormente avvalorata è quella della trasmissione Oro - fecale L'urea Breath test con ^{13}C rappresenta un valido ausilio diagnostico per lo screening ed il monitoraggio dell'infezione da H.P.

Scopo del lavoro Lo scopo del nostro lavoro è stato quello di valutare la possibilità di utilizzo dell'urea breath test con ^{13}C come metodo di screening per l'infezione da H.P. nell'ambito di uno studio famigliare.

Materiali e Metodi Presso il nostro ambulatorio nel periodo compreso tra 01/01/2002 al 30/06/2002 sono pervenuti n° 20 gruppi famigliari, per un totale di n° 95 pazienti, in cui almeno uno dei componenti risultava positivo all'H. P. con esame istologico ed urea breath test con ^{13}C. Tali pazienti non avevano effettuato alcun ciclo di terapia eradicante
Età: Mediana 40 (Range di età 5 - 58) 95 CI della mediana 40 - 52 95th – 56
Maschi 38 (40%) Età : Mediana 41 (Range di età 6-58) 95CI mediana 34–55 95th=57 Femrnine 57 (60%) Età. Mediana 38 (range 5 - 50) 95CI mediana 30-48 95th = 49 La metodica da noi utilizzata prevede nei 15 giorni precedenti l'esecuzione del test, la non assunzione da parte del paziente di farmaci quali: antibiotici, antinfiammatori, antiacidi, inibitori della pompa protonica, H2 antagonisti, non abbia fumato da 24 ore e sia a digiuno da almeno da due ore utilizzando la seguente procedura: 1) un campione di espirato basale 2) somministrazione di 75 mg di urea marcata con carbonio ^{13}C disciolta in 200 ml di succo di arancia non zuccherato 3) un campione di espirato dopo 30 minuti dalla somministrazione dell'urea L'analisi dell'espirato è stata eseguita mediante l'utilizzo dell'analizzatore all'infrarosso per isotopi stabili IRIS (Byk Golden Italia) la valutazione della risposta viene effettuata in DOB (δ over baseline) (v.n. < 5%).

Risultati: Soggetti positivi 36 (37.89%) Soggetti negativi n° 59 (62.11%),

n° pazienti sintomatici positivi	n° pazienti sintomatici negativi	n° di pazienti asintomatici positivi	n° pazienti asintomatici negativi
20	19	16	40

Conclusioni:
L'elevato numero di pazienti asintomatici risultati positivi al test, può indurre ad utilizzare l'urea breath test con ^{13}C quale ausilio nella diagnosi precoce in soggetti nei quali l'anamnesi famigliare rileva la presenza di almeno un componente positivo all'infezione dell'H.P., ciò è facilitato anche dall'assoluta tollerabilità del test che può essere utilizzato anche in ambito pediatrico. Inoltre il test può anche supportare gli studi epidemiologici per una migliore definizione dei meccanismi di trasmissione dell'infezione

E-17

FISH TEST PER L'IDENTIFICAZIONE DI *HELICOBACTER PYLORI* E DETERMINAZIONE DELLA SENSIBILITÀ ALLA CLARITROMICINA IN BIOPSIE GASTRICHE CONGELATE

D. Signori[a], L. Caser[a], M. De Boni[b], M. De Bona[b], A. Bellumat[b] R. Barbazza[c]
[a]Laboratorio Analisi Chimico-Cliniche e Microbiologia; [b]Gastroenterologia; [c]Anatomia Patologica.
Presidio Ospedaliero ULSS 2 - Feltre (BL)

Scopo del lavoro

Scopo del lavoro è valutare la possibilità di conservare a -20°C le biopsie gastriche su cui effettuare ibridazione in situ con sonde fluorescenti (FISH) per l'identificazione di ceppi di *H. pylori* resistenti alla claritromicina (Cla(r)). Questo consente l'utilizzo di un trattamento antibiotico elettivo per l'eradicazione di *H. pylori,* contribuendo a limitare lo sviluppo di antibiotico-resistenza e a risparmiare in termini di esami diagnostici e trattamenti terapeutici ripetuti.

Materiali e Metodi

Dieci soggetti dispeptici, trattati con almeno tre cicli di terapia antibiotica, sono stati sottoposti a esofagogastroduodenoscopia e a raccolta di biopsie dall'antro e dal fondo gastrico, che sono state sottoposte a indagini istologiche e a FISH test (creaFAST H. pylori Combi Kit - Oxoid). Il metodo per la ricerca di *H. pylori* e di ceppi Cla(r) utilizza sonde di DNA che individuano specifiche sequenze dell'rRNA batterico, identificando il tipo selvatico (sensibilità dichiarata 100% e specificità 98,5%) e i tre tipi resistenti ClaR1, ClaR2 e ClaR3[1] (correlazione dichiarata con E-test 100%). La diagnosi microbiologica è stata eseguita sul tessuto bioptico, conservato immediatamente dopo il prelievo a -20°C per un periodo di 10 giorni-2 mesi, omogeneizzato in PBS, trattato con formaldeide 37%, lavato in PBS, fissato in etanolo e PBS e steso su un vetrino, disidratato in 3 bagni di etanolo a diverse concentrazioni e ibridato in camera umida per 90 min, lavato e osservato con il microscopio a fluorescenza utilizzando un filtro per il verde per identificare strutture con morfologia batterica verde brillante (*H. pylori*) e un filtro per il rosso per i batteri Cla(r).
Il controllo di qualità è effettuato con vetrini allestiti con microrganismi negativi e positivi (creaFAST QC slide *H. pylori*).

Risultati

I risultati del FISH test sono stati comparati con la lettura dei preparati istologici (colorazione E&E) per la ricerca di *H. pylori.* In tabella il confronto delle indagini eseguite.

Sede e N° biopsie	Breath-test positivo	Diagnosi endoscopica	Diagnosi istologica	Istologia positivo *H. pylori*	FISH test positivo *H. pylori*	*H. pylori* Cla(r)
Antro 10	10	2 gastropatia erit.sa 1 atrofia mucosa	4 gastrite cr. attiva 5 gastrite cr. superf.	1 diffusamente 5 focalmente	2 numerosi 1 alcuni, 6 rari	2 alcuni 3 rari
Fondo 10			1 gastrite cr. attiva 6 gastrite cronica	2 focalmente	3 alcuni 4 rari	2 rari 1 rarissimi

Discussione e Conclusioni

CreaFAST *H. pylori* Combi Kit è validato dalla ditta fornitrice solo con materiale bioptico fissato in formalina e incluso in paraffina, analizzato entro 24 ore. Viene suggerita la possibilità di utilizzare sezioni sottili ottenute al criomicrotomo[2] o strisci di tessuto omogeneizzato con mortaio.
Il FISH test eseguito su biopsie omogeneizzate, conservate a -20°C, ha dato risultati soddisfacenti.
La possibilità di conservare per tempi più lunghi il materiale bioptico consente di gestire in modo indipendente le fasi di prelievo e analitica.

Bibliografia

1. Trebesius K, Panthel K, Strobel S. et al. Gut 2000; 46: 608-14.
2. Russmann H, Kempf VAJ, Koletzko S et al. J Clin Microbiol 2001; 39: 304-8.

E-18

Monitoraggio delle infezioni da Mycoplasma in materiali urogenitali

M.Falleni, P.Bartolini, S.Costanzo, P. Leonetti, B.Innocenti.
1°Laboratorio Analisi Chimico-Cliniche e Microbiologiche Azienda Ospedaliera Pisana

Obiettivo

Scopo del nostro studio è stato quello di seguire durante il periodo Giugno 2001-Giugno 2002 la percentuale dei casi positivi nell'isolamento del Mycoplasma hominis e dell'Ureaplasma urealyticum che rappresentano le specie responsabili più frequenti nelle patologie urogenitali. Inoltre abbiamo svolto un'analisi per valutare sensibilità e resistenze ai più comuni antibiotici utilizzati.

Materiali e metodi

Il materile inviato al Laboratorio per la ricerca di Micoplasma sia da pazienti ospedalizzati che da pazienti ambulatoriali può essere di varia natura : campioni di urine,liquido seminale, tamponi vaginali ed endocervicali e tamponi uretrali. Per il campione delle urine occorre raccogliere il primo getto,centrifugare e risospendere il sedimento con alcune gocce di soluzione fisiologica sterile. Il liquido seminale deve essere diluito 1:10 in soluzione fisiologica sterile. Per effettuare un buon campionamento endocervicale è necessario , dopo aver posizionato lo speculum, detergere con cura l'esocollo, eliminare il muco cervicale ed effettuare il prelievo a livello dell'endocollo.
Per i tamponi uretrali si utilizza un tampone di cotone che, introdotto nell'uretraper due-tre centimetri, viene fatto ruotare per qualche secondo in modo da seguire un vero scraping della mucosa uretrale.
Per la diagnostica utilizziamo il kit fornito dalla ditta bio-Merieux che permette la coltura, l'identificazione, la conta indicativa e la determinazione della sensibilità agli antibiotici di U.urealyticum e di M.hominis.

Risultati

I risultati del nostro studio hanno evidenziato che per un totale di 643 campioni di origine urogenitale ne sono risultati positivi 132. Fra questi 126 campioni sono risultati positivi per U.urelyticum e 6 per M.hominis. Gli antibiotici che abbiamo testato sono stati: Doxiciclina, Eritromicina, Josamicina, Ofloxacina, Pristinamicina e Tretraciclina.

Conclusioni

Dai dati emersi dal nostro studio abbiamo riscontrato l'importanza che rivestono i Micoplasma nelle infezioni urogenitali che, in presenza di carica elevata(>10000), possono dare luogo a patologie di notevole importanza.
I risultati dell'antibiogramma che possiamo fornire al clinico permettono di attuare una terapia antibiotica mirata.

E-19

INCIDENZA DELLA METICILLINO-RESISTENZA DELLO STAPHYLOCOCCUS AUREUS (MRSA) NEL NOSTRO OSPEDALE E NELLE CASE DI RIPOSO AFFERENTI

AUTORE: E. Trabuio, M. Colpo, E. Barzon, V. Miconi
ISTITUZIONE: Laboratorio di Analisi chimico-cliniche e microbiologiche
Ospedale San Lorenzo Valdagno (VI)

Lo Staphylococcus aureus è una delle più comuni cause d'infezione nosocomiale e comunitaria, ma la sempre più crescente resistenza alla meticillina è una seria complicanza per la guarigione dei pazienti affetti da patologia acuta o cronica. Attualmente la MRSA è considerata un'emergenza, sia per la capacità del germe di indurre per via genica una farmaco resistenza in altre specie batteriche, sia per la nuova resistenza alla vancomicina.
Il nostro studio prende in esame l'incidenza della MRSA nei semestri degli anni 2001 e 2002 tra i degenti dell'Ospedale di Valdagno (VI) e gli ospiti delle case di riposo afferenti al nostro laboratorio.

MATERIALI E METODI:

Nei semestri presi in considerazione sono stati isolati 195 ceppi di Staphylococcus aureus da terreno selettivo (Chapman-sale mannite), identificati mediante il sistema d'identificazione ID 32 Staph della Ditta bioMerieux; l'antibiogramma è stato eseguito mediante il sistema ATB STAPH 5 e interpretato mediante la lettura strumentale ATB. La meticillino-resistenza è stata confermata dal test "oxacillina agar screen". I materiali di provenienza dei ceppi batterici sono: urine, essudati ferita, emocolture, drenaggi, cateteri vascolari e urinari, escreati. Gli isolamenti sono stati distinti in base alla provenienza: reparti ospedalieri e case di riposo.

RISULTATI

Tab.n.1 : Numeri e percentuali di Staphylococchi aurei MRSA suddivisi per semestre

	Isolamenti di S. Aureus	MRSA (n)	MRSA (%)
1° semestre 2001	n. 53	n. 14	26.4 %
2° semestre 2001	n. 76	n. 23	30.2 %
1° semestre 2002	n. 66	n. 13	19.6 %
TOTALE	**n. 195**	**n. 50**	**25.6 %**

Tab.n.2: Numeri di Staphylococchi aurei MRSA suddivisi in base alla provenienza e per semestre

	Reparti Ospedalieri	**Case di Riposo**
1° semestre 2001	n. 11	n. 3
2° semestre 2001	n. 17	n. 6
1° semestre 2002	n. 8	n. 5
Totale MRSA in 18 mesi	**n. 36 (72 %)**	**n. 14 (28%)**
Media di MRSA per semestre	**n. 12**	**n. 4.6**

CONCLUSIONI:

Dai dati preliminari fin qui raccolti, possiamo confermare una quota rilevabile di MRSA pari al 25.6 % degli Staphylococchi aurei isolati nei reparti ospedalieri e nelle case di riposo; percentuale che può esser comparabile con i dati espressi in letteratura. Tuttavia il numero di ceppi di MRSA isolati dagli ambienti di cura (n. 36 ceppi MRSA su 50 isolati, pari al 72 %) e nelle case di riposo (n. 14 ceppi MRSA su 50 isolati pari, al 28%) deve creare un giusto allarme per la potenziale trasmissibilità della farmaco resistenza tra germi anche di specie diverse e per il controllo delle infezioni ospedaliere. Tale rilevanza epidemiologica giustifica un investimento in risorse umane ed economiche per l'istituzionalizzazione di un comitato per la sorveglianza delle infezioni ospedaliere e della farmaco resistenza.

E-20

EHRLICHIOSI GRANULOCITICA UMANA: PRIMO CASO IN ITALIA.

Maurizio Ruscio

Laboratorio Ricerche Cliniche e Microbiologia, Centro per la Borreliosi di Lyme. Ospedale di San Daniele del Friuli.

Scopo del Lavoro

Viene riportato il primo caso di Ehrlichiosi Granulocitica Umana (HGE) in Italia

Materiali e Metodi

Una donna di 54 anni abitante a Enemonzo, comune della Carnia (Friuli Venezia Giulia), morsa da una zecca, ha presentato nell'agosto 2001 un quadro clinico di Ehrlichiosi: febbre elevata (39°C), aumento degli enzimi epatici, sieroconversione per gli antigeni dell'HGE e positività all'Immunoblot. La paziente è stata trattata con doxycyclina (200 mg die) per due settimane con scomparsa della febbre al secondo giorno di terapia. Dopo due settimane le condizioni della paziente erano notevolmente migliorate con normalizzazione degli enzimi epatici e modesta astenia residua. Al terzo ed ultimo controllo, nel dicembre 2001, la paziente era completamente ristabilita con negatività del quadro clinico e parametri epatici sempre nella norma

Risultati

La diagnosi di HGE è stata confermata dalla presenza degli anticorpi specifici ricercati con test IFI (Focus Technologies, Alifax) sul siero raccolto nel corso della prima visita. In tale occasione il titolo delle IgG era di 1:80; dopo quindici giorni il titolo era di 1:256. All'ultimo controllo, a tre mesi dal termine della terapia, il titolo era salito a 1:1024. L'IgG Immunoblot HGE eseguito con la proteina ricombinante 44-MBP ha mostrato la caratteristica banda a 80 kDa che, in accordo con la letteratura, è considerata specifica per l'infezione da HGE.

Discussione e conclusioni

L'ehrlichiosi umana è una zoonosi emergente trasmessa dal morso di zecca. L'agente causale è un piccolo battere gram negativo, intracellulare obbligato, recentemente ascritto al genere *Anaplasma.* Il primo caso è stato descritto nel 1986 negli Stati Uniti dove sono state identificate due forme di ehrlichiosi umana: la monocitica, causata dall'*Ehrlichia chaffensis* e la granulocitica causata dall'*Ehrlichia equi* e dall'*Ehrlichia phagocytophila* con individuazione di un comune vettore nell'*Ixodes scapularis*. Negli USA sono stati riportati oltre 600 casi di HGE, mentre in Europa (vettore l'*Ixodes ricinus*) a tutto il 2002 esistono 50 segnalazioni confermate, di cui 10 in Slovenia. In precedenti indagini eseguite sulle zecche del Friuli Venezia Giulia, regione confinante con la Slovenia ed endemica per la Borreliosi di Lyme, si è riscontrato il 42% dell'*Ixodes ricinus* positivo all'agente causale dell'HGE. Poiché in Italia non è stato rilevata finora l'HGE, nonostante la presenza di anticorpi nella popolazione, dimostrata con studi di sieroprevalenza, il caso descritto rappresenta la prima segnalazione di ehrlichiosi umana nel nostro Paese.

E-21

Metodi diagnostici rapidi nell'infezione da *P. falciparum*

G. Swierczynski*, Z. Bisoffi**, M. Gobbo**, B. Milanesi*
*Lab. Analisi Cliniche Ospedale Desenzano del Garda ** Lab. Med. Tropicale, Ospedale "S. Cuore", Negrar, Verona

Introduzione: presentiamo un confronto tra le metodiche disponibili (tests immunocromatografici rapidi, fluorescenza ed esame microscopico) per la diagnosi di malaria da *P. falciparum.*

Metodi a confronto

	Es. microscopico		Fluorescenza	HRP-2	p-LDH
	Goccia spessa	Striscio sottile	Q.B.C. Arancio di acridina	Proteina degli stadi asessuati e giovani gametociti	Isoenzima degli stadi asessuati e sessuati
Sensibilità (parassiti/uL)	50	Inferiore di 10 - 20 volte rispetto alla g.s.	50 Inferiore con altre specie	> 100	> 100
Stadi del parassita	Riconoscibili con molta esperienza	Facilmente riconoscibile	Solo forme ad anello?	NO	NO
Parassitemia	SI	SI	NO	NO	NO
T. di esecuzione (minuti)	30/60	30 / 60	15	20	20
Interpretazione / lettura	Ottima esperiena	Buona esperienza (pazienza !!!!)	Ottima esperienza	Facile	Facile
Falsi positivi / negativi	NO / NO	NO / NO	NO /NO	(1) SI / SI (2)	NO /NO
Strumentazione	Microscopio	Microscopio	Apposita centrifuga Microscopio a fluorescenza	NO	NO
Costo del singolo esame	Basso	Basso	Medio / basso	Moderato / alto	Moderato / alto
Informazioni prognostiche dell'infezione (3)	SI	SI	NO	NO	NO

(1) Persistenza di HRP-2 fino a 14 giorni in assenza di parassiti. Pazienti con fattore reumatoide positivo.

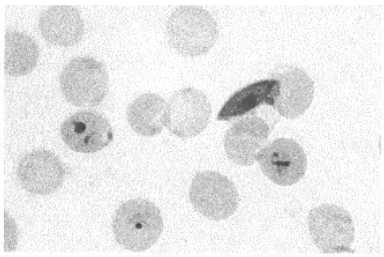

Foto 1: trofozoiti e giovane gametocita di *P. falciparum*

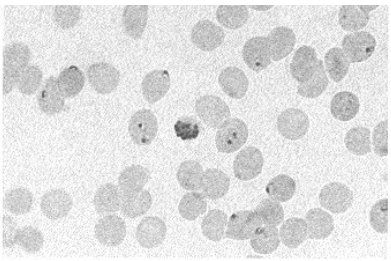

Foto 2: trofozoiti e schizonte di *P. falciparum*

Discussione e conclusioni

In zone non endemiche (Europa) la rapida e accurata diagnosi di malaria nel "viaggiatore di ritorno" febbrile è spesso critica. In questi casi il soggetto è quasi sempre non immune ed un ritardo nella diagnosi è spesso fatale; se è stato eseguito un trattamento anti malarico per profilassi o terapia non corretto, la carica parassitaria può diminuire notevolmente o addirittura essere negativa (compresi i metodi rapidi) ma l'infezione può evolvere ugualmente in una forma grave; la presenza all'esame microscopico di globuli bianchi melaniferi (anche in assenza di parassiti) deve indurre il sospetto di malaria. Nell'accesso pernicioso grave, a differenza dei metodi rapidi, l'esame microscopico può rilevare una parassitemia elevata (>5%) e l'eventuale presenza di schizonti, che costituisce elemento prognostico sfavorevole e come tale va segnalata, affinché il clinico possa impostare correttamente la terapia. Solo in situazioni particolari ove non è possibile utilizzare la microscopia, i metodi rapidi costituiscono l'unica alternativa corretta alla diagnosi clinica della malaria senza però che debbano essere considerati sostitutivi alla diagnosi microscopica. Questo è il motivo per cui è auspicabile che le istituzioni scientifiche che organizzano corsi per la formazione del personale di laboratorio, forniscano il supporto all'esecuzione pratica da parte dei discenti di tutte le metodiche.

Bibliografia

- J.C. Pethitory, F. Arduin Guidon. Cahier de formation biologie Medicale. Parasites sanguins N° 23 Dic. 2001 Ed. Bioforma.
- A. Moody. Rapid Dignostic test for malaria parasites. Clin. Micr. Rev. Jan. 2002, p.66 - 78.

E-22

COMPRESENZA DI *Borrelia burgdorferi*, *Ehrlichia (HGE)*, *Babesia* e *Rickettsia* IN *Ixodes ricinus* NEL BELLUNESE

Bertiato G., Benedetti G., Doglioni C., Lorenzato C., Piccolin G., Porta V., Mancuso S.
Osservatorio per lo studio, la sorveglianza e la prevenzione delle infezioni trasmesse da zecche
Centro Regionale di riferimento per la diagnostica delle malattie trasmesse da zecche
ULSS n. 1 del Veneto – Belluno

Nell'area bellunese già da alcuni anni è emersa la significativa presenza di due entità cliniche, diffuse in larga parte dell'Europa, quali la Borreliosi di Lyme (LB) e l'Encefalite trasmessa da zecche (TBE). Resta ancora da definire l'importanza clinica e l'eventuale prevalenza di Ehrlichiosi e Babesiosi, e di altre infezioni, presenti solo in ristrette aree geografiche europee, come la Febbre Q, la Tularemia, la Febbre esantematica mediterranea, i cui agenti eziologici possono essere trasmessi dalle zecche.

Scopo del lavoro. L'Osservatorio per lo studio , la sorveglianza e la prevenzione delle infezioni trasmesse da zecche, istituito dall'ULSS n. 1 del Veneto, ha condotto negli anni 2000-2001 una campagna di raccolta di tali parassiti in alcune aree del Bellunese. Ciò come indagine preliminare ad un più ampio monitoraggio che permetta, anche attraverso l'utilizzo di un sistema geografico informatizzato (GIS) di tracciare le mappe di rischio di contatto con i parassiti trasmettitori e la presenza in essi degli agenti patogeni.

Materiali e metodi. Sono state esaminate 980 zecche nei vari stadi di larve, ninfe e adulti, maschi e femmine. I prelievi sono stati effettuati nel corso del 2001 in siti di campionamento rappresentativi di una suddivisione per classi omologhe del territorio provinciale. Le zecche sono state raccolte con il metodo della "coperta strisciata" (*draggin sample*) e conservate in alcool etilico al 70% a 4°C. Gli estratti di DNA, ottenuti con il metodo del fenolo/cloroformio per gli adulti e con il metodo di Schoultz per ninfe e larve, sono stati amplificati dapprima con i *primer 16a/16b* specifici per il DNA mitocondriale di *Ixodes*, come controllo della fase di estrazione (*Matuschka, 1996*). Per la ricerca delle borrelie sono stati utilizzati i *primer c/c'* specifici per *B. burgdorferi sensu lato* (*Rosa, 1991*), per le ehrlichie i *primer Ehr521/Ehr747* capaci di amplificare una regione variabile della sequenza del gene 16S rRNA di *E. equi, E. phagocytophila* e HGE (*Pancholi, 1995*), per le babesie i *primer Piro-A e Piro-B* che amplificano una regione del gene 16S rRNA di *B. odocoilei, B. divergens* e *B. microti* (*Armstrong, 1998*) e per Rickettsia i *primer Ric-RicU8* e *Ric-RtRic* che amplificano una regione del gene 16S rRNA di *R. helvetica* (*Nilsson, 1997*).

Risultati. L'indagine ha consentito di individuare nelle zecche analizzate una positività del 5,5% per *Borrelia burgdorferi*, del 7,6% per *Ehrlichia (HGE)*, del 1,63% sia per *Babesia* che per *Rickettsia*.
Merita di essere sottolineato che in 7 campioni di DNA (0,7%) è stata registrata la contemporanea positività per *Borrelia* e *Ehrlichia*, in 2 per *Borrelia* e *Babesia*, in 2 per *Borrelia* e *Rickettsia*, in 1 per *Borrelia*, *Ehrlichia* e *Babesia*, in 1 per *Ehrlichia* e *Rickettsia*, in 1 per *Babesia* e *Rickettsia*.

Discussione e conclusioni. I risultati delle indagini confermano la significativa presenza in *Ixodes ricinus* di *Borrelia* ed *Ehrlichia* ma suggeriscono la possibilità di trasmissione di altre patologie, che potrebbero essere sottostimate. Ciò perchè sarebbero pochi i casi reali di infezione umana, o perché nella maggior parte dei casi le malattie potrebbero avere un decorso lieve. E una scarsa conoscenza delle malattie trasmesse potrebbe non portare ad una diagnosi corretta.
E', pertanto, da attuare una attenta sorveglianza per definire la reale estensione del problema.

E-23

L'esperienza di Farmacoepidemiologia Infettiva Descrittiva dell'Ospedale di Rovereto

Gualdi P[1], Pasqualini A[2], Calì AM[1], Caramatti S[2], Mariotti G[3], Schinella M[1].

[1]Laboratorio di Chimica Clinica e Microbiologia, [2]Unità Operativa di Farmacia, [3]Direzione Medica di Presidio Ospedaliero, Ospedale di Rovereto, piazzale S.Maria, 38068 Rovereto (TN);

Introduzione

La resistenza dei batteri agli antibiotici, costituisce un importante fattore di fallimento del trattamento delle malattie da infezione, mentre il consumo di antibiotici presenta un rilevante e crescente capitolo di spesa; si ritiene, conseguentemente, che un uso più appropriato e più efficace degli stessi possa costituire un importante strumento di razionalizzazione della spesa farmaceutica.

Materiali e Metodi

Il CIO dell'ospedale di Rovereto ha intrapreso uno studio di farmacoepidemiologia infettiva descrittiva: ha predisposto un sistema di sorveglianza ospedaliera delle resistenze ai farmaci antibatterici basato sui risultati degli antibiogrammi eseguiti presso Laboratorio di Chimica Clinica e Microbiologia e sui dati di consumo degli antibiotici desunti dal Servizio di Farmacia, focalizzando l'attenzione sui glicopeptidi, molecole dotate di caratteristiche farmacologiche tali da essere utilizzate in modo mirato per preservarne l'efficacia. Per questo motivo è necessaria una richiesta motivata: un modulo che deve essere completamente e correttamente compilato in ogni sua parte dal medico ogni qualvolta ritenga necessario utilizzare un antibiotico di tale lista. Tale richiesta deve riportare le notizie generali relative al paziente, la motivazione della richiesta e la presentazione dell'antibiogramma.
Le richieste di farmaco dovrebbero essere evase dalla Farmacia, se conformi alle indicazioni.

Risultati

Su una spesa di circa 2 milioni 380 mila euro per farmaci nel 2001 e 627000 euro di antibiotici, nel 2000 la spesa di farmaci è stata più alta, 2 milioni 425 mila euro, mentre la spesa di antibiotici minore all'anno successivo 615000 euro. L'analisi percentuale di spesa per antibiotici nel 2001 suddivisa per gruppo terapeutico evidenzia come le cefalosporine incidano in maniera rilevante sulla spesa totale per antibiotici 34%, seguite dai glicopeptidi 20%. Tuttavia rispetto al 2000 nel 2001 si nota una diminuzione della spesa di cefalosporine sulla spesa totale di antibiotici, dal 36% si passa al 34%, a favore del gruppo terapeutico dei glicopeptidi dal 18% al 20%.
Come CIO sono stati analizzati gli allegati pervenuti alla farmacia da gennaio a settembre 2000 di due unità operative: una internistica e una chirurgica; la maggior parte degli allegati era carente di quasi tutte le motivazioni.

Discussione

Un approccio ragionato, motivato ed interdisciplinare con l'aiuto del laboratorio di microbiologia e lo stretto contatto con le U.O. può portare a ottimizzare l'uso dei glicopeptidi nella pratica clinica. Infatti, dopo una attenta lettura dei dati e una vivace discussione in ambito CIO, è stata approntata una linea guida sulla profilassi ad opera di un Comitato di Scrittura (rianimazione, laboratorio, farmacia, malattie infettive, direzione medica di presidio ospedaliero) che sta portando dei notevoli cambiamenti sull'utilizzo del laboratorio di microbiologia e dei farmaci in generale. In conclusione, un uso razionale dei glicopeptidi come per altro degli antibiotici in generale conduce alla cura del paziente e al risparmio di costi e di risorse.

E-24

ESPERIENZA DI COLLABORAZIONE FRA SPECIALISTI OSPEDALIERI E MEDICI DI MEDICINA GENERALE NELLA TERAPIA DELLE INFEZIONI AMBULATORIALI

Anna Piazza[a], Angelo C. Palozzo[b], Giacomo Benetti[c]

a) Laboratorio di Patologia Clinica Ospedale Geriatrico - Padova; b) Farmacia Ospedale Geriatrico - Padova; c) Medico di Medicina Generale ULSS 16 Padova

Premessa

Nel settembre 1999 si sono costituiti dei gruppi di progetto, coordinati dai Distretti dell'ULSS 16 di Padova, per migliorare la Qualità nell'Assistenza Primaria. Uno di questi è stato proposto per la realizzazione e l'applicazione di Linee Guida (LG) per la Terapia Antibiotica delle Infezioni Ambulatoriali. Il gruppo, tutt'ora attivo, è costituito da 4 Medici di Medicina Generale (MMG), un Medico Ospedaliero della sezione di microbiologia e un Farmacista Ospedaliero.

Realizzazione del progetto:

Nel corso dell'anno 2000, attraverso riunioni periodiche, il gruppo ha elaborato una bozza di LG, dopo aver consultato:

- ✓ la letteratura di riferimento (sia come articoli originali che come LG di società scientifiche o autori accreditati);
- ✓ i dati epidemiologici diffusi dal Sistema di Sorveglianza della Regione Veneto sulle Resistenze ai farmaci antibatterici;
- ✓ i dati di rilevazione locale (report periodici della sezione di Microbiologia dell'ospedale Geriatrico per i pazienti ambulatoriali).

La bozza delle LG è stata discussa con medici specialisti delle varie branche; sono stati in seguito organizzati degli incontri di aggiornamento e di condivisione delle LG con un gruppo collaborativo costituito da 70 MMG dell'ULSS 16, che sono stati invitati ad applicarle nella pratica professionale quotidiana a partire dall'ottobre 2000.

Il gruppo di progetto ha identificato i seguenti tre obiettivi e i relativi indicatori per valutare l'effettiva applicazione delle LG nell'ambito dei farmaci antimicrobici (classe ATC = J):

1. Riduzione dei Principi Attivi (PA) prescritti in relazione alle proposte delle LG
   - Indicatore: numero medio dei PA prescritti prima e dopo le LG
2. Riduzione della prescrizione di PA per via iniettiva
   - Indicatore: % spesa per antimicrobici iniettabili calcolati in rapporto alla spesa totale degli antimicrobici
3. Aumento della prescrizione dei farmaci antimicrobici come specialità generiche
   - Indicatore: % pezzi specialità generiche sul totale delle specialità di cui esiste il generico

La verifica degli indicatori è stata eseguita sulle registrazioni delle ricette SSN elaborate dal Servizio Farmaceutico Territoriale, prima e dopo la realizzazione del progetto.

Conclusioni

Nei primi mesi del 2002 rilevati hanno dimostrato che tutti gli obiettivi indicati sono stati raggiunti. Attraverso successive riunioni con i MMG del gruppo collaborativo sono state valutate analiticamente le risultanze epidemiologiche e di economia sanitaria.

E' da porre in evidenza che nel corso degli incontri i MMG hanno richiesto che il progetto avesse seguito con periodi riunioni di aggiornamento e con la diffusione di rapporti epidemiologici periodici sia sulla componente microbiologica che di prescrizione.

Nel corso del progetto hanno chiesto di essere arruolati altri MMG, e ciò ha dimostrato quanto interesse abbia suscitato tale esperienza. Per favorire la consultazione delle LG, oltre che nella versione cartacea, sono state realizzate delle pagine web con ricerca in ipertesto all'indirizzo:

http://padova.fimmg.org/materiali/antimic/INDEX.HTM