www.medicalsystems.it

ISSN 0394 3291

Caleidoscopio
Italiano

Daniela L. Rocca, Barbara Repetto,
Anna Marchese, Eugenio A. Debbia

Patogeni emergenti e resistenze batteriche

Direttore Responsabile
Sergio Rassu

183

... il futuro ha il cuore antico MEDICAL SYSTEMS SpA

Tariffa R.O.C.: "Poste Italiane S.p.a. - Sped. in A.P. - D.L. 353/2003, (conv. in L. 27/02/2004 n. 46) art. 1 comma 1, DCB Genova"; n° 183- Ottobre 2004 - Dir. resp.: Sergio Rassu - Editore: Medical Systems S.p.A. Genova - Contiene I.P. - Stampa: La Stampa SpA - Genova

Caleidoscopio
Italiano

Daniela L. Rocca, Barbara Repetto,
Anna Marchese, Eugenio A. Debbia

Sezione di Microbiologia C.A. Romanzi, DISCAT
Università di Genova

Patogeni emergenti e resistenze batteriche

Direttore Responsabile
Sergio Rassu

183

... il futuro ha il cuore antico

MEDICAL SYSTEMS SpA

ISTRUZIONI PER GLI AUTORI

Informazioni generali. ***Caleidoscopio pubblica lavori di carattere monografico a scopo didattico su temi di Medicina. La rivista segue i requisiti consigliati dall'International Committee of Medical Journal Editors. Gli Autori vengono invitati dal Direttore Responsabile. La rivista pubblica anche monografie libere, proposte direttamente dagli Autori, redatte secondo le regole della Collana.***

Testo. La monografia deve essere articolata in paragrafi snelli, di rapida consultazione, completi e chiari. I contenuti riportati devono essere stati sufficientemente confermati. E' opportuno evitare di riportare proprie opinioni dando un quadro limitato delle problematiche. La lunghezza del testo può variare dalle 60 alle 70 cartelle dattiloscritte ovvero 100-130.000 caratteri (spazi inclusi). Si invita a dattilografare su una sola facciata del foglio formato A4 con margini di almeno 25 mm. Usare dovunque doppi spazi e numerare consecutivamente. Ogni sezione dovrebbe iniziare con una nuova pagina.

Frontespizio. Deve riportare il nome e cognome dell'Autore(i) -non più di cinque- il titolo del volume, conciso ma informativo, la Clinica o Istituto cui dovrebbe essere attribuito il lavoro, l'indirizzo, il nome e l'indirizzo dell'Autore (compreso telefono, fax ed indirizzo di E-mail) responsabile della corrispondenza.

Bibliografia. Deve essere scritta su fogli a parte secondo ordine alfabetico seguendo le abbreviazioni per le Riviste dell'Index Medicus e lo stile illustrato negli esempi:

1) Björklund B., Björklund V.: Proliferation marker concept with TPS as a model. Apreliminary report. J. Nucl. Med. Allied. Sci 1990 Oct-Dec, VOL: 34 (4 Suppl), P: 203.

2 Jeffcoate S.L. e Hutchinson J.S.M. (Eds): The Endocrine Hypothalamus. London. Academic Press, 1978.

Le citazioni bibliografiche vanno individuate nel testo, nelle tabelle e nelle legende con numeri arabi tra parentesi.

Tabelle e figure. Si consiglia una ricca documentazione iconografica (in bianco e nero eccetto casi particolare da concordare). Figure e tabelle devono essere numerate consecutivamente (secondo l'ordine di citazione nel testo) e separatamente; sul retro delle figure deve essere indicato l'orientamento, il nome dell'Autore ed il numero. Le figure realizzate professionalmente; è inaccettabile la riproduzione di caratteri scritti a mano libera. Lettere, numeri e simboli dovrebbero essere chiari ovunque e di dimensioni tali che, se ridotti, risultino ancora leggibili. Le fotografie devono essere stampe lucide, di buona qualità. Gli Autori sono responsabili di quanto riportato nel lavoro e dell'autorizzazione alla pubblicazione di figure o altro. Titoli e spiegazioni dettagliate appartengono alle legende, non alle figure stesse. Su fogli a parte devono essere riportate le legende per le figure e le tabelle.

Unità di misura. Per le unità di misura utilizzare il sistema metrico decimale o loro multipli e nei termini dell'International system of units (SI).

Abbreviazioni. Utilizzare solo abbreviazioni standard. Il termine completo dovrebbe precedere nel testo la sua abbreviazione, a meno che non sia un'unità di misura standard.

Presentazione dellamonografia. Riporre il dattiloscritto, le fotografie, una copia del testo in formato .doc oppure .rtf, ed copia di grafici e figure in formato Tiff con una risoluzione di almeno 240 dpi, archiviati su CD in buste separate.

Il dattiloscritto originale, le figure, le tabelle, il dischetto, posti in busta di carta pesante, devono essere spediti al Direttore Responsabile con lettera di accompagnamento. L'autore dovrebbe conservare una copia a proprio uso. Dopo la valutazione espressa dal Direttore Responsabile, la decisione sulla eventuale accettazione del lavoro sarà tempestivamente comunicata all'Autore. Il Direttore responsabile deciderà sul tempo della pubblicazione e conserverà il diritto usuale di modificare lo stile del contributo; più importanti modifiche verranno eventualmente fatte in accordo con l'Autore. I manoscritti e le fotografie se non pubblicati non si restituiscono.

L'Autore riceverà le bozze di stampa per la correzione e sarà Sua cura restituirle al Direttore Responsabile entro cinque giorni, dopo averne fatto fotocopia. Le spese di stampa, ristampa e distribuzione sono a totale carico della Medical Systems che provvederà a spedire all'Autore cinquanta copie della monografia. Inoltre l'Autore avrà l'opportunità di presentare la monografia nella propria città o in altra sede nel corso di una serata speciale.

L'Autore della monografia cede tutti i pieni ed esclusivi diritti sulla Sua opera, così come previsti dagli artt. 12 e segg. capo III sez. I L. 22/4/1941 N. 633, alla Rivista Caleidoscopio rinunciando agli stessi diritti d'autore (ed acconsentendone il trasferimento ex art. 132 L. 633/41).

Tutta la corrispondenza deve essere indirizzata al seguente indirizzo:

Restless Architect of Human Possibilities sas
Via Pietro Nenni, 6
07100 Sassari

Editoriale

Il programma di Educazione Continua in Medicina (ECM) al di là delle polemiche, dei conflitti di interessi, delle diatribe, degli enormi interessi economici, delle criticità che si stanno creando si sta dimostrando un formidabile catalizzatore nel promuovere la cultura in ambito sanitario innescando tutta una serie di interventi che vanno anche al di là del semplice evento formativo e finisce con lo stimolare altre aree, ad esempio quella editoriale. Ma questo non è l'unico effetto, anche menti e personaggi che vengono "costretti" ad uscire dal torpore culturale che per anni le aveva cullate e li costringe così ad un confronto serrato con la crescita della cultura scientifica.

Questa monografia nasce proprio quale supporto di un interessantissimo convegno di aggiornamento inquadrato nel programma ECM e devo ringraziare vivamente il Prof. Debbia che ha accettato la sfida, vincendola, di preparare questa monografia in un tempo brevissimo. In realtà tutto è facilmente spiegabile quando si sa di poter contare su una "Scuola" che non deve costruire tutto dal "nulla" ma ha un background rilevante e questo, ritengo, sia il merito maggiore di un "Maestro".

Gli Autori sono infatti tutti della stessa Scuola. La Dott.ssa Daniela Luisa Rocca e la Dott.ssa Barbara Repetto hanno conseguito la Laurea in Scienze Biologiche presso l'Università degli studi di Genova. Attualmente lavorano presso la Sezione di Microbiologia C.A. Romanzi del DISCAT dell'Università degli studi di Genova e svolgono attività di ricerca scientifica nell'ambito delle resistenze batteriche agli antibiotici.

La Prof.ssa Anna Marchese ha conseguito la Laurea in Scienze Biologiche ed il diploma di Specializzazione in Microbiologia e Virologia presso l'Università degli Studi di Genova. La Prof.ssa Marchese è inoltre Dottore di Ricerca in Scienze Microbiologiche. Attualmente ricopre l'incarico di Professore Associato di Microbiologia e Microbiologia Clinica presso la Sezione di Microbiologia C.A. Romanzi del Di.S.C.A.T. dell'Università degli Studi di Genova.

Il ricco percorso formativo è caratterizzato da numerosi periodi di soggiorno trascorsi in prestigiosi Istituti di ricerca esteri: il Karolinska Institute a Stoccolma, l'Hospital Saint Louis a Parigi, la Rockefeller University a New York, e da speciali corsi quali quelli organizzati da EMBO (European Molecular Biology Organization).

Attualmente la Prof.ssa Marchese coordina i laboratori di genetica, biologia molecolare ed epidemiologia delle resistenze batteriche della Sezione di Microbiologia C.A. Romanzi del Di.S.C.A.T dell'Università degli Studi di Genova.

E' autrice di oltre 200 tra pubblicazioni su Riviste Internazionali, Nazionali e atti di congressi Internazionali e Nazionali.

Il Prof. Eugenio Agenore Debbia, laureato in Scienze Biologiche, è Dottore di Ricerca in Scienze Microbiologiche e Professore Ordinario in Microbiologia presso l'Università degli Studi di Genova, Facoltà di Medicina e Chirurgia e Insegnante incaricato di Microbiologia Clinica presso la Facoltà di Scienze. Attualmente è Direttore della Sezione di Microbiologia C.A. Romanzi del Di.S.C.A.T dell'Università degli Studi di Genova.

E' inoltre Direttore della Scuola di Specializzazione in Microbiologia e Virologia dell'Università degli Studi di Genova e delegato regionale per la Liguria dell'Associazione Microbiologi Clinici Italiani (AMCLI). Il Prof. Debbia è membro del comitato per la lotta contro le Infezioni Ospedaliere (CIO), Azienda Ospedaliera Ospedale S. Martino di Genova, membro del Direttivo della Società Italiana di Microbiologia (SIM) ed è inoltre incluso nell'albo dei Revisori presso il Ministero dell'Istruzione, dell'Università e della Ricerca (MIUR), nonché "Referee" per i corsi di accreditamento per l'Educazione Continua in Medicina.

Il Prof. Debbia è inoltre membro di numerose Società Scientifiche Nazionali e Internazionali e autore di oltre 500 tra pubblicazioni su Riviste Internazionali e Nazionali, di un libro di testo di Microbiologia, di capitoli di libri e di relazioni a Congressi Internazionali e Nazionali. Gli interessi scientifici sono costituiti dalla Microbiologia Clinica, dalla Genetica, dalla Fisiologia batterica, dalla Biologia Molecolare, dai metodi per la corretta valutazione dei meccanismi e dell'espressione della resistenza agli antibiotici, dall'epidemiologia delle resistenze agli antibiotici, dai sistemi automatici per la valutazione delle resistenze agli antibiotici e dalle applicazione della Biologia Molecolare alla Microbiologia Clinica.

Sergio Rassu

Patogeni emergenti

Le malattie infettive sono, a livello mondiale, la seconda causa principale di morte. Circa 15 milioni (>25%) delle 57 milioni di morti annuali in tutto il mondo, infatti, sono legate direttamente a queste patologie. Il dato non include le morti aggiuntive che avvengono come conseguenza di infezioni passate o per complicazioni associate a malattie croniche. Tra le patologie che causano morte predominano le infezioni acute delle basse vie respiratorie, l'HIV / AIDS, le malattie intestinali, la tubercolosi e la malaria. Il peso della morbilità e della mortalità associato alle infezioni ricade molto pesantemente sui paesi in via di sviluppo ed in particolare sulla popolazione pediatrica, 3 milioni di bambini muiono ogni anno di malaria e di malattie intestinali (17, 28, 80, 98, 118, 119).

L'impatto globale delle malattie infettive in rapporto alle altre patologie dipende sia da quelle ben note e con incidenza stabile, sia dal continuo flusso di infezioni nuove ed emergenti.

Le infezioni emergenti possono essere definite come nuove infezioni che appaiono in una popolazione e che non sono mai state riconosciute prima di quel momento.

Un esempio di infezione emergente è la Sindrome da Immuno-Deficienza Acquisita (AIDS) che è stata riconosciuta per la prima volta nel 1981. Oggi l'AIDS minaccia di sorpassare la "peste nera" del 14° secolo e la pandemia influenzale del 1918-1920, ciascuna delle quali uccise almeno 50 milioni di persone (17, 28, 80, 98, 114, 118, 119).

Un altro esempio di infezione emergente è la Sindrome Respiratoria Severa Acuta (SARS) che è emersa nel 2003 ed ha avuto un grosso impatto in tutto il mondo (17, 28, 80, 98, 118, 119).

Le infezioni riemergenti sono invece definite come infezioni di cui si è già avuta esperienza in passato e che, a distanza di tempo, riemergono in forma più virulenta o con maggiore incidenza; due recenti esempi di infezioni riemergenti sono la dengue e la febbre West Nile.

Il dengue virus è stato identificato per la prima volta nel 1903 come agente eziologico della febbre dengue , una malattia accompagnata da febbre, rash e artralgia; 50 anni dopo il dengue virus si è ripresentato come causa di una nuova malattia, la dengue febbre emorragica, ed ancora oggi negli Stati Uniti la dengue rimane una minaccia a causa degli insetti vettori di questo virus.

La febbre West Nile è invece originaria dei paesi medio orientali, ma a partire dal 1999 il virus responsabile di tale febbre si è trasmesso anche negli USA (62 casi con 7 morti a New York City) a causa di insetti vettore e di una varietà di uccelli ospiti intermedi (17, 28, 80, 98, 118, 119).

La disamina sulla minaccia delle malattie infettive riemergenti non può essere completa senza menzionare l'influenza A che ha colpito nel 1918, nel 1957 e nel 1968 e che per questo rappresenta uno degli esempi epidemici più catastrofici del 21° secolo (17, 28, 80, 98, 118, 119).

Alle infezioni emergenti e riemergenti si possono per completezza affiancare le cosiddette "malattie deliberatamente emergenti"; a questo riguardo si può citare l'attacco bioterroristico di antrace del 2001 negli Stati Uniti. E' da specificare però che le malattie deliberatamente emergenti non rappresentano una nuova categoria di infezioni. La Tabella 1 riporta una sintesi dell'uso di armi biologiche nella storia.

Cause dell'emergenza delle malattie infettive

I fattori che contribuiscono all'emergenza delle malattie infettive sono molti, tra questi possiamo citare l'aumentata crescita della popolazione mondiale e il sovraffollamento di città caratterizzate da una cattiva sanità, la maggiore possibilità di movimento, la produzione e la distribuzione massiva di cibo in assenza, talvolta, di norme sanitarie adeguate e infine i cambiamenti ecologici che alterano continuamente la composizione dei serbatoi di infezione (17, 28, 80, 98, 114, 118, 119, 129).

In particolare però dobbiamo dire che, nell'ambito delle patologie infettive ad eziologia batterica, le problematiche emergenti sono legate soprattutto allo sviluppo di antibiotico-resistenza in importanti patogeni. Tra gli agenti eziologici di infezioni acute tale fenomeno ha coinvolto principalmente: *Streptococcus pneumoniae*, enterococchi, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacteriaceae* e *Pseudomonas aeruginosa*.

1767 - Inglesi inviano coperte infettate con virus del vaiolo a tribù indiane ostili	Anni '50 – in USAvengono effettuati studi su moltissimi agenti patogeni, sulla loro resistenza, profilassi e terapia. Effettuati anche test *in vivo* su volontari e aerosolizzazione con "simulanti" (es: rilascio di *Serratia marcescens* a San Francisco)
1916-1918 – spie tedesche usano *B. anthracis* per infettare bestiame ed alimenti destinati alle forze alleate	1969 – Presidente Nixon: dichiarazione di disarmo delle armi biologiche
1927 – Protocollo di Ginevra (proibisce l'uso in guerra di armi come gas e agenti microbici, ma non limita o regola lo sviluppo o la produzione di tali armi)	1972 – Biological and toxic Weapon Convention (porta i governi dei paesi occidentali a fermare lo sviluppo di armi biologiche)
1932-1945 – Japan Unit 731, in Manchuria, esperimenti con *B. anthracis*, 10000 prigionieri uccisi 1932-1939 – Incidente di Nomonhan: i Giapponesi contaminano le riserve d'acqua dei Russi con *S. typhi* al confine mongolo 1932-1940 – I Giapponesi paracadutano sacchi di riso e frumento contenenti pulci infettate da *Yersinia pestis* su Cina e Manchuria	1973-1974 – Unione Sovietica: Biopreparat, catena di 52 siti che ufficialmente eseguono ricerca farmaceutica, ma in realtà si occupano di armi biologiche (decine di tonnellate di *B. anthracis* e di virus del vaiolo)
Durante la II Guerra Mondiale, i tedeschi studiano vaccini e antimicrobici su prigionieri nei campi di concentramento	1979 – epidemia di carbonchio polmonare a Sverdlovsk (Unione Sovietica) a causa di un errore umano (rilascio di spore da laboratorio militare) riconosciuto solo nel 1992 (Boris Yeltsin)
Forze alleate producono bombe all'antrace saggiate nell'isola di Gruinard (Scozia) che rimane contaminata fino al 1980	

Tabella 1. Bioterrorismo nella storia.

Antibiotico-resistenza

La resistenza da parte dei batteri agli antibiotici maggiormente utilizzati in terapia ha ormai assunto una dimensione globale coinvolgendo anche l'ambiente comunitario, per lungo tempo esente da queste problematiche, ma ove le segnalazioni di ceppi resistenti sono ormai purtroppo sempre più frequenti (65, 91, 119). La comunità scientifica si chiede quali siano le misure più opportune da adottare per arginare questo fenomeno, pur individuando nello sviluppo di nuovi principi attivi, unitamente ad un impiego più appropriato dei farmaci disponibili, le soluzioni più valide (15, 65, 133).

L'intenso uso degli antibiotici, anche in contesti diversi da quelli del controllo delle infezioni batteriche, è giustamente considerato alla base dell'evoluzione dei microrganismi verso la resistenza a questi composti. Tale fenomeno è emerso parallelamente all'introduzione degli antibiotici in terapia, ma solo recentemente si osservano fenotipi di resistenza molto variegati rispetto al passato, ove le differenze tra le minime concentrazioni inibenti (MIC) registrate con i ceppi sensibili e quelle con gli stipiti resistenti erano molto nette.

E' ben noto che i batteri, sia a causa di mutazioni, sia per scambio di materiale genetico con altri microrganismi, possono ereditare le più disparate proprietà biochimiche, incluso la capacità di sopravvivere alla presenza di antimicrobici. Esistono, tuttavia, ceppi che in un solo evento genetico acquisiscono la completa resistenza ad alcuni antibiotici e, altri, che evolvono verso tale fenotipo gradualmente attraverso più eventi successivi. Pertanto, accanto a stipiti totalmente resistenti che si differenziano nettamente in termini di MIC rispetto ai germi sensibili, si ritrovano sempre più facilmente batteri che mostrano un fenotipo cosiddetto "borderline", più difficili da individuare a causa della scarsa differenza tra la concentrazione di antibiotico necessaria per inibirne la crescita o consentirne lo sviluppo. In molti casi, infatti, i risultati possono essere influenzati da piccole variazioni dell'inoculo, della temperatura o di altri fattori che potrebbero modificare i valori delle MIC con conseguente spostamento del microrganismo dalla categoria sensibile a quella resistente, intermedia o viceversa.

In altre situazioni il ceppo manifesta un fenotipo non facilmente decifrabile a causa di alterazioni del tasso di crescita o di altre perturbazioni fisiologiche causate dalla mutazione che determina tale resistenza. Il germe può, inoltre, risultare sensibile ai saggi sulla base dei valori limite, ma celare la presenza di mutazioni che rappresentano già un'evoluzione verso l'insensibilità e che può essere individuata solo con ulteriori prove mirate. Se si prende come esempio il caso dei ceppi produttori di β-lattamasi a spettro esteso

(ESBL), NCCLS suggerisce di porre molta attenzione sui dati degli aloni registrati con la metodica dell'antibiogramma indicando che, anche se il ceppo risulta sensibile all'antibiotico saggiato, ma l'alone appare di dimensioni ridotte rispetto ai valori medi osservati con i ceppi di controllo, conviene effettuare prove addizionali al fine di confermare la presenza di un ceppo produttore di ESBL (85).

Vale la pena ricordare, inoltre, che in vivo si instaurano facilmente condizioni di concentrazioni subinibenti la crescita che sono note favorire la selezione di germi resistenti specie per stipiti che possiedono meccanismi in corso di evoluzione portandoli in breve tempo alla totale insensibilità. In questi casi al clinico rimane l'opzione di un farmaco alternativo o in mancanza di scelte l'uso di una combinazione di antibiotici. Quindi è soprattutto il microbiologo che può dare al clinico indicazioni per il corretto uso degli antibiotici fornendogli indicazioni importanti sui fenotipi di resistenza più o meno palesi ritrovati attraverso le prove di laboratorio e sul loro significato. Un piccolo accorgimento potrebbe ulteriormente aiutare sia il clinico sia il microbiologo. Ad esempio tutti gli esami biochimici o altri refertati dal laboratorio presentano anche i valori normali in cui un parametro dovrebbe essere incluso. Nel caso che vi siano valori prossimi a quelli soglia il clinico può consigliare al paziente di porre maggiore attenzione alla dieta alimentare o suggerire altre misure per non favorire un processo verso una conclamata patologia. Sulla base di questo esempio anche il microbiologo invece di refertare un ceppo soltanto S, I, o R dovrebbe dare informazioni su quelli che sono i criteri con cui si ottengono tali dati. Ad esempio se il laboratorio indicasse nella risposta il valore del diametro in mm o quello della MIC riportando accanto i valori normali delle diverse categorie, sarebbero messi in evidenza quei patogeni che presentano livelli di sensibilità prossimi al limite soglia a testimonianza di una possibile evoluzione negativa. Questa informazione sarebbe più completa e potrebbe aiutare il clinico ad una scelta più corretta degli antibiotici da utilizzare riducendo sia il rischio di un fallimento terapeutico sia la diffusione di stipiti che veicolano la resistenza agli antibiotici.

Non va inoltre dimenticato che molte specie batteriche presentano un'intrinseca resistenza agli antibiotici che deve essere sempre ricordata indipendentemente dall'esito di un saggio di sensibilità. Le Tabelle 2, 3 e 4 riportano rispettivamente esempi di resistenza intrinseca, di refrattarietà acquisita e in fase di evoluzione e gli antibiotici che più comunemente possono essere utilizzati come indicatori di resistenza.

Specie	Resistenza naturale
Enterobacteriaceae	**Penicillina, glicopeptidi, acido fusidico, macrolidi clindamicina, linezolid, streptogramine, mupirocin.**
Acinetobacter baumanii	**Ampicillina, amoxicillina cefalosporine di I generazione.**
P.aeruginosa	**Ampicillina, amoxicillina, co-clavulanato, cefalosporine di I e II generazione, cefotaxime, ceftriaxone, acido nalidixico, trimetoprim.**
B.cepacia	**Ampicillina, amoxicillina, cefalosporine di I generazione, colistin, aminoglicosidi.**
Stenotrophomonas maltophilia	**Tutti i β-lattamici eccetto ticarcillina-clavulanato, aminoglicosidi.**
Flavobacterium (Chryseobacterium/Myroides)	**Ampicillina, amoxicillina, cefalosporine di I generazione.**
Salmonella spp.	**Cefuroxime (attivo in vitro, non attivo in vivo).**
Klebsiella spp., Citrobacter diversus	**Ampicillina, amoxicillina, carbenicillina, ticarcillina.**
Enterobacter spp., C. freundii	**Ampicillina, amoxicillina, co-clavulanato, cefalosporine di I generazione, cefoxitin.**
M. morganii	**Ampicillina, amoxicillina, co-clavulanato, cefalosporine di I generazione, cefuroxime, colistin, nitrofurantoina.**
Providencia spp.	**Ampicillina, amoxicillina, co-clavulanato, cefalosporine di I generazione, cefuroxime, gentamicina, netilmicina, tobramicina, colistin, nitrofurantoina.**
Proteus mirabilis	**Colistin, nitrofurantoina.**
Proteus vulgaris	**Ampicillina, amoxicillina, cefuroxime, colistin, nitrofurantoina.**
Serratia spp.	**Ampicillina, amoxicillina, co-clavulanato, cefalosporine di I generazione, cefuroxime, colistin.**
Yersinia enterocolitica	**Ampicillina, amoxicillina, carbenicillina, ticarcillina, cefalosporine di I generazione.**

(segue)

Campylobacter jejuni, Campylobacter coli	**Trimetoprim.**
H. influenzae	**Penicillina G, eritromicina, clindamicina.**
M. catarrhalis	**Trimetoprim.**
Batteri gram-positivi	**Aztreonam, temocillina, colistin, acido nalidixico.**
Streptococchi	**Acido fusidico, aminoglicosidi (eccetto casi di sinergismo)*.**
S. pneumoniae	**Trimetoprim, aminoglicosidi.**
S. aureus meticillino-resistenti	**Tutti i β-lattamici**
Enterococchi	**Penicillina G, carbenicillina, ticarcillina, tutte le cefalosporine, aminoglicosidi*, mupirocina.**
Listeria	**Cefalosporine di III generazione, fluorochinoloni.**
***Basso livello di resistenza: gli aminoglicosidi sono utili per il sinergismo con le penicilline contro i più comuni streptococchi e enterococchi.**	

Tabella 2. Resistenza intrinseca in patogeni usuali (adattata da Livermore et al.), (66).

Organismi	**Antibiotici**
Stafilococchi	Acido fusidico, rifampicina, fluorochinoloni.
Stafilococchi eritromicino-resistenti	Clindamicina.
S. pneumoniae	Ciprofloxacina, levofoxacina.
P. aeruginosa	Tutti gli antibiotici anti-pseudomonas, escluso colistin e, probabilmente, meropenem.
B. cepacia	Tutti gli antibiotici rilevanti.
Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Morganella	Tutte le cefalosporine di III generazione
Coliformi con ESBL	Cefamicine (via impermeabilità).
Tutti i coliformi	Fosfomicina, acido nalidixico (no fluorochinoloni).
Serratia marcescens	Netilmicina, tobramicina, amikacina, kanamicina.

Adattata da Livermore *et al*.(66).

Tabella 3. Combinazioni antibiotico/organismo per cui è possibile lo sviluppo e la diffusione di resistenza in seguito ad eventi mutazionali.

Organismi	**Resistenza a**	**Effetti**
Stafilococchi	Oxacillina o meticillina	Resistenza a tutti i β-lattamici.
Stafilococchi	Eritromicina	Resistenza inducibile alla clindamicina: non usare la clindamicina o usarla con cauzione.
Stafilococchi	Eritromicina e clindamicina (lincomicina potrebbe essere un migliore indicatore di clindamicina)	Resistenza costitutiva MLSB. Quinupristin / dalfopristin batteriostatici, non battericidi; il dosaggio potrebbe essere aumentato a tre volte le dosi giornaliere nelle infezioni della pelle e dei tessuti molli.
Pneumococchi	Oxacillina (diametro ≤ 18 mm)	Probabilmente penicillino-resistente. Eseguire E-test per l'utilizzo di cefalosporina o penicillina.
E. faecalis	Ampicillina	Probabilmente E. faecium, verifica delle specie
H. influenzae	Cefaclor	Resistenza non di tipo β-lattamasi (miglior indicatore di ampicillina).
N. gonorrhoeae/H. influenzae	Acido nalidixico	Indica ridotta suscettibilità o resistenza ai fluorochinoloni.
Klebsiella/ E. coli	Ceftazidime o cefpodoxime	Produttori ESBL. Evitare tutte le cefalosporine eccetto cefamicine.
Enterobacteriaceae	Cefalosporine di II generazione	Producono potenti β-lattamasi: evitare cefalosporine di I generazione.
Enterobacteriaceae	Cefalosporine di III generazione	Producono potenti β-lattamasi: evitare cefalosporine di I e II generazione eccetto, probabilmente, cefamicine.
Enterobacteriaceae	Ureidopenicilline	Producono penicillinasi, evitare amino- e carbossi-penicilline (es: piperacillina).
Enterobacteriaceae	Combinazioni β-lattamasi / inibitori suicidi	Assumono resistenza alle corrispondenti penicilline non protette.

Adattata da Livermore et al.(66).

Tabella 4. Antibiotici più comunemente usati come indicatori.

Meccanismi di resistenza genetici

Quando la consistenza di una popolazione microbica assume valori superiori al milione di individui diviene altamente probabile che in più di una cellula si verifichino eventi spontanei che ne modificano il patrimonio genetico. Tali cambiamenti potrebbero favorire l'insorgenza del microrganismo più adatto a prevalere quando le condizioni ambientali dovessero mutare. Le possibilità di adattamento sono praticamente illimitate poiché i microrganismi hanno la capacità di variare il proprio patrimonio genetico non solo attraverso mutazioni spontanee ma anche mediante lo scambio di materiale genetico (102, 128). La resistenza extracromosomica è molto importante ed è tipica dei batteri che sono gli unici esseri viventi in grado di avere scambi di informazioni genetiche tra specie diverse; grazie a tale fenomeno ogni batterio ha virtualmente a disposizione l'intero corredo cromosomico di tutte le specie batteriche esistenti.

Lo scambio di informazione genetica avviene frequentemente tramite coniugazione, cioè attraverso lo scambio di elementi genetici extracromosomici denominati plasmidi; questi veicolano spesso trasposoni in grado di "catturare" i geni responsabili della resistenza ad uno o più farmaci antimicrobici, i quali vengono poi passati di specie in specie insieme ai plasmidi. Lo scambio di informazione genetica può avvenire anche tramite trasduzione (fagi) o trasformazione (DNAlibero) (20, 102, 128).

La resistenza a livello del genoma batterico si sviluppa come risultato di una mutazione spontanea in un locus che controlla la sensibilità a un dato agente antimicrobico. La presenza di un farmaco antimicrobico agisce poi come meccanismo selettivo sopprimendo i microrganismi sensibili e permettendo la crescita dei mutanti resistenti (20, 102, 128). L'incidenza di resistenza di ciascun patogeno è dipendente dalla pressione selettiva esercitata dalla quantità di farmaco impiegato in un determinato ambiente, quindi il consumo di farmaci è il "motore" dell'incidenza di resistenza (20, 102, 128).

Meccanismi di resistenza biochimici

I microrganismi hanno diverse alternative per evitare l'azione letale degli antibiotici:

a) produzione di enzimi inattivanti gli antibiotici
b) alterazione della permeabilità dell'involucro
c) alterazione del bersaglio
d) sistemi di trasporto attivo
e) vie metaboliche alternative.

a) Produzione di enzimi inattivanti gli antibiotici

Grazie al fatto che gli antibiotici più diffusi in terapia sono i β-lattamici, uno dei meccanismi di resistenza più frequenti è la produzione di β-lattamasi. Questo enzima è in grado di idrolizzare (distruggere) l'anello β-lattamico dell'antibiotico annullando totalmente la sua attività antibatterica. I gram-positivi liberano tale enzima nell'ambiente circostante impedendo al farmaco di venire a contatto con i batteri. Nei gram-negativi la produzione di β-lattamasi avviene, invece, a livello dello spazio periplasmico ove l'antibiotico viene di fatto neutralizzato (21, 102, 128).

La prima β-lattamasi è stata descritta nel 1965 ed è veicolata da un plasmide coniugativo ritrovato in un ceppo di una giovane paziente di nome Timoniera, da cui il nome della β-lattamasi TEM-1. Ad oggi sono noti più di 300 tipi diversi di β-lattamasi che conferiscono resistenza alle penicilline e alle cefalosporine di I e II generazione. A queste sono da aggiungere le β-lattamasi a spettro esteso (ESBL) originatesi per mutazione puntiforme di TEM-1 e SHV-1 e capaci di inattivare le cefalosporine di III generazione (ma non i carbapenemici o le combinazioni con inibitori suicidi). Le ESBL sono prevalentemente diffuse tra le *Enterobacteriaceae* (*E. coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Serratia*) e in particolare in *K. pneumoniae* (~20%).

L'idrolisi dell'anello β-lattamico può essere impedita utilizzando i cosiddetti inibitori suicidi, cioè β-lattamici inizialmente scartati per la loro modesta potenza antibatterica, ma poi rivalutati perché capaci di legarsi in modo covalente alle β-lattamasi bloccando la loro attività enzimatica e impedendo l'inattivazione dell'altro eventuale farmaco presente.

Gli inibitori suicidi oggi in uso sono: acido clavulanico, tazobactam e sulbactam. Questi composti vengono abbinati a penicilline (ad esempio: amoxicillina + acido clavulanico) o cefalosporine e garantiscono loro immunità dalle più diffuse β-lattamasi (in pratica permettono il superamento della resistenza ai β-lattamici mediata da questi enzimi).

Altri enzimi inattivanti gli antibiotici sono: acetil-trasferasi, fosforil-transferasi, adenil-transferasi; queste proteine non idrolizzano l'antibiotico, ma reagiscono chimicamente con esso, trasferendo diversi gruppi chimici in vari siti del principio attivo con conseguente modificazione della sua attività. Di questo gruppo fanno parte gli enzimi che inattivano gli aminoglicosidi, i quali possono essere acetilati, fosforilati o adenilati con conseguente inattivazione dovuta al loro mancato accumulo all'interno della cellula batterica e all'impossibilità di legarsi alle molecole bersaglio. Il cloramfenicolo può essere inattivato dall'enzima CAT (cloramfenicolo acetil transferasi) che acetila i gruppi idrossilici della molecola rendendola non tossica per la cellula (19, 21, 102, 128).

b) Alterazione della permeabilità dell'involucro

Per molti batteri si parla di resistenza intrinseca, cioè comune a tutti i

microrganismi della stessa specie, per esempio i batteri Gram-negativi non sono sensibili ai glicopeptidi perché la loro membrana esterna è naturalmente impermeabile a questi antibiotici, mentre i batteri Gram-positivi, per simili motivi, non sono inibiti dall'acido nalidixico, dall'aztreonam e dalle polimixine (assenza membrana esterna).

Per quanto riguarda l'alterazione della permeabilità dell'involucro è da ricordare che sulla membrana dei batteri gram-negativi sono normalmente presenti le OMP(outer membrane proteins), le quali hanno funzione di canale per il passaggio di antibiotici; l'alterazione di queste proteine può impedire l'ingresso dell'antimicrobico nella cellula batterica (ad esempio: chinoloni e β-lattamici) (87).

c) Alterazione del bersaglio

Negli stafilococchi la resistenza all'oxacillina (meticillina) è dovuta all'acquisizione di un gene detto *mec*A veicolato da un trasposone che codifica per una nuova PBP2'. I ceppi OXA-R oltre che acquisire la resistenza crociata a tutti i β-lattamici (anche se attivi *in vitro*) mostrano spesso resistenza ai chinoloni, macrolidi, aminoglicosidi, rifampicina, ecc.

Negli pneumococchi vi è stata acquisizione di geni dalla popolazione microbica normale (streptococchi orali) di PBP 1A, 2X, 2B e 2A che sono differenti dalle originali, conferendo resistenza alla penicillina. Per quanto riguarda la resistenza a cefotaxime e ceftriaxone, le PBP 1A e 2X risultano alterate, mentre le altre PBP non sembrano avere affinità per le cefalosporine di III generazione (21, 102, 113, 128).

La resistenza ai chinoloni è dovuta ad una mutazione cromosomica che modifica la DNA girasi e rende l'enzima resistente a questa classe di farmaci (alterazione della sub-unità A della DNA-girasi); in questo caso è sufficiente la sostituzione di un aminoacido con un altro per rendere il microrganismo resistente (21, 102, 128).

La resistenza ai glicopeptidi negli Enterococchi è dovuta ai geni *Van*A, *Van*B, *Van*C, che codificano per una proteina che modifica un precursore della parete; il nuovo precursore non è più sequestrato dall'antibiotico e la sintesi del peptidoglicano procede.

Per i macrolidi e i lincosamidi si ha metilazione del residuo di adenina sull'RNAribosomiale 12S della subunità 50S del ribosoma, che quindi impedisce all'antibiotico di interagire con il ribosoma stesso (21, 102, 128).

d) Sistemi di trasporto attivo

Il meccanismo di efflusso più noto riguarda la tetraciclina. I prodotti dei geni *tet* sono delle proteine transmembranali che trasportano attivamente le tetracicline dall'interno all'esterno della cellula batterica, impedendo l'accumulo dell'antibiotico. I geni *tet* sono di classe A-E negli enterobatteri, di clas-

se K-L nei Gram-positivi; come esempio possiamo citare il gene *tet*L, a localizzazione plasmidica, il quale codifica per un sistema di efflusso che conferisce un basso livello di resistenza alla tetraciclina.

Un meccanismo simile è noto negli streptococchi, dove il gene *mef*, veicolato da trasposoni, conferisce resistenza ad eritromicina e ad altri macrolidi a 14-15 atomi ma non a macrolidi a 16 atomi, lincosamidi e streptogramine; questo fenotipo è noto come fenotipo M. Negli stafilococchi il sistema di efflusso è attivo per macrolidi a 14-15 atomi e streptogramine, ma non per i lincosamidi. Sempre negli stafilococchi è stato identificato il gene *nor*A che elabora una proteina che trasporta all'esterno i chinoloni. Studi recenti indicano che in ceppi come lo *Pseudomonas* questo meccanismo di resistenza è molto efficace.

Un ulteriore esempio di efflusso sono le "multidrugs resistence pumps": pompe di efflusso non specifiche, ma in grado di espellere antibiotici di varie strutture chimiche, le quali sono presenti in importanti patogeni multiresistenti (*N. gonorrhaeae, S. aureus, P. aeruginosa* ecc.) (20, 21, 87, 102, 128).

e) Vie metaboliche alternative

I microrganismi sono in grado di sviluppare delle alternative alle consuete vie metaboliche in modo da evitare l'inibizione della reazione da parte del farmaco. Ad esempio in alcuni batteri resistenti al trimethoprim, l'enzima acido diidrofolico reduttasi è inibito in modo del tutto trascurabile rispetto a quanto avviene nei batteri trimethoprim-sensibili; oppure alcuni stipiti sulfamido-sensibili *in vitro* non necessitano di PABAextracellulare, mentre possono utilizzare l'acido folico preformato, ma risultano resistenti *in vivo* (20, 102, 128).

Streptococcus pneumoniae

Generalità

Al microscopio ottico gli pneumococchi si presentano nella tipica forma lanceolata o piriforme, in coppie (diplococchi) talvolta disposti in corte catene. Questi microrganismi Gram-positivi sono asporigeni, aerobi-anaerobi facoltativi, non produttori di catalasi, capsulati. La capsula può essere evidenziata mediante colorazione negativa con inchiostro di china. Nella parete di *S. pneumoniae* è contenuto l'antigene C, formato da acido teicoico, colina e galattosamina-6-fosfato, che precipita in presenza di calcio con la proteina C-reattiva del siero. Tale legame può, *in vivo*, attivare la via alternativa del com-

plemento. Sulla superficie cellulare o in prossimità della stessa è collocato l'antigene R, di solito isolato da pneumococchi non capsulati. La proteina M pneumococcica, anche se presente, risulta priva di effetto antifagocitario apprezzabile (84).

La patogenicità degli pneumococchi è legata soprattutto al polisaccaride capsulare, dotato di un intrinseco potere anti-fagocitario. Esso possiede inoltre la capacità di neutralizzare gli anticorpi specifici che circolano durante la fase avanzata dell'infezione, in quanto diffonde liberamente nei liquidi interstiziali. La capacità di sostenere malattia si basa su fattori strutturali ed extracellulari. La colonizzazione delle mucose respiratorie, fase iniziale dell'infezione, è mediata da proteine superficiali (adesine) che si legano a recettori glicoproteici delle cellule epiteliali umane. Il tropismo per il polmone è favorito dalle modalità di diffusione aerea di questo patogeno, dall'esistenza in tale sede di opportuni recettori nonchè da una proteasi pneumococcica che idrolizza le IgA1, principale fattore di difesa in associazione ad un buon funzionamento del sistema mucociliare del tratto respiratorio inferiore.

La resistenza alla fagocitosi, associata alla produzione e dismissione di prodotti tossici (pneumolisina, neuraminidasi, autolisina), favorisce la diffusione sistemica e l'invasività tissutale del germe (84, 95).

Devono comunque essere tenute in considerazione situazioni "facilitanti" il superamento delle naturali difese dell'organismo quali, l'alcolismo, il diabete, le immunodepressioni primitive e secondarie. I fattori predisponenti più frequenti della polmonite pneumococcica sono gli stati di ipoventilazione secondari a pneumopatie croniche ostruttive o ad infezioni virali e le situazioni di scompenso cardiaco congestizio, che inducono stasi ematica e trasudazione endoalveolare. Il 10-30% degli adulti sani è portatore orofaringeo di uno o più tipi di pneumococchi, la cui proliferazione è localizzata e limitata tuttavia dall'antagonismo dei batteri della popolazione microbica residente (84, 95).

Nell' eziologia delle infezioni respiratorie in ambito comunitario, il ruolo svolto dallo pneumococco risulta di primaria importanza. Esso è infatti patogeno primario della tipica polmonite lobare e di quadri meno caratteristici quali otiti e sinusiti acute che possono riconoscere peraltro una diversa eziologia (Emofili, *Moraxella catarrhalis,* Micoplasmi, virus, ecc.). L'interessamento dei seni paranasali, nonchè la localizzazione mastoidea possono risultare il focolaio di partenza di una meningite acuta, quadro di notevole gravità anche per i possibili reliquati neurologici (84, 95).

Da ricordare infine la possibilità che *S. pneumoniae* produca endocarditi ed artriti secondarie a polmonite in pazienti defedati (84, 95).

L'infezione pneumococcica è tra le più importanti cause di morte specialmente nel paziente anziano. E' stato stimato che globalmente in tutto il mondo si verificano 3-5 milioni di decessi all'anno a causa di infezioni soste-

nute da questo germe, un tasso di mortalità paragonabile a quello della tubercolosi (84, 95, 123).

Meccanismi di resistenza agli antibiotici

La resistenza ai β-lattamici è interamente dovuta alla presenza di forme alterate delle cosiddette PBP (Penicillin Binding Proteins) ad alto peso molecolare, con ridotta affinità per questa classe di antibiotici.

S. pneumoniae possiede 5 PBP ad alto peso molecolare (lA, 1B, 2A, 2B, 2X), e la PBP3 a basso peso molecolare che sembra avere grande affinità per l'acido clavulanico.

I ceppi penicillino-resistenti contengono forme diverse delle PBP 1A, 2A, 2X e 2B a bassa affinità (23, 122).

Origine delle PBP alterate:

comparando le sequenze nucleotidiche delle PBP 2B, 2X e lA di ceppi penicillino-sensibili e resistenti è stato rilevato che i geni dei ceppi penicillino-resistenti possiedono una struttura a mosaico ossia composta da regioni simili a quelle corrispondenti nei penicillino-sensibili e da regioni che divergono nella sequenza del 14 - 23% (23, 81, 122).

La struttura a mosaico delle PBP a ridotta affinità deriverebbe da più eventi di trasferimento e ricombinazione inter-specie. Tramite questi processi parti dei geni delle PBP degli pneumococchi verrebbero sostituite con regioni corrispondenti derivate da geni omologhi di specie strettamente correlate, come gli streptococchi α-emolitici orali (es.: *S. mitis*) (59).Questo è reso possibile dalla naturale competenza degli pneumococchi a ricevere molecole di DNA dall'ambiente.

La resistenza alle cefalosporine coinvolge solo le PBP 1A e 2X. Le cefalosporine di III generazione hanno un'affinità per la PBP 2B veramente bassa e la riduzione nell'affinità di questo enzima non contribuisce alla resistenza nei loro confronti.

La resistenza alle cefalosporine a spettro esteso potrebbe non essere associata alla resistenza alla penicillina, infatti trasformanti che contengono i geni PBP lA e 2X provenienti da ceppi con MIC al cefotaxime elevata (32 mg/L), sono altamente resistenti alle cefalosporine ma sensibili alla penicillina (MIC: 0.1 mg/L), poiché l'affinità della PBP 2B rimane inalterata (81). L'ampio "pool" di geni che codificano per le forme a bassa affinità di PBPlAe 2X suggerisce che la resistenza a cefotaxime e ceftriaxone potrà aumentare rapidamente. La diffusione della resistenza in seguito a trasformazione è da aspettarsi più frequente che il diffondersi orizzontale di alti livelli di penicillino-resistenza che richiede il co-trasferimento di almeno 3 geni delle PBP (81).

Le PBP sono catalizzatori enzimatici essenziali per la costruzione della

parete batterica. Le basi molecolari degli effetti antibatterici dei β-lattamici si basano sulla somiglianza dell'anello β-lattamico alla parte D-Ala-Ala carbossiterminale del substrato fisiologico delle PBP, il precursore muropeptidico della parete. La ridotta affinità del β-lattamico per le PBP dovrebbe risultare anche in una ridotta affinità di queste per il loro substrato; i ceppi penicillino-resistenti superano questo problema presentando una composizione diversa della parete (il muropeptide possiede un gruppo alanil-alanina [Ala-Ala] o alanil-serina [Ala-Ser] al posto del gruppo aminico della lisina con formazione di un ponte indiretto) che rende possibile l'interazione con le PBP mutate. La produzione di una parete modificata sembra essere il prezzo che gli pneumococchi devono pagare per il loro particolare meccanismo di resistenza. Non è ancora chiaro se la capacità di produrre tali substrati alternativi in quantità sufficiente sia presente in tutti gli pneumococchi, dato che tale processo richiede la derepressione, la sintesi o l'acquisizione di determinanti genetici degli enzimi richiesti (33). Nel 1985 si è osservato un'ampia popolazione di ceppi penicillino-resistenti caratterizzata da resistenza all'autolisi indotta dall'antibiotico. E' stato ipotizzato che la pressione ciclica dell'antibiotico, che si verifica in clinica, selezioni pneumococchi tolleranti, cioè meno sensibili agli effetti irreversibili della penicillina, che potrebbero essere i riceventi preferenziali per le sequenze di DNA responsabili del rimodellamento dei geni per le PBP (122).

La caratteristica della tolleranza, unitamente alla capacità dello pneumococco di ricevere DNA dall'ambiente, può considerarsi parte di un meccanismo evoluzionistico che predispone questi batteri ad acquisire la resistenza agli antibiotici attraverso trasformazione piuttosto che attraverso mutazioni puntiformi in determinanti genetici (122).

I meccanismi di resistenza ai macrolidi negli Streptococchi comprendono:

- modificazione del bersaglio;
- efflusso.

La modificazione del bersaglio avviene a livello ribosomiale, dove una metilasi codificata dal gene *erm*, aggiunge 1 o 2 residui metilici all'amino gruppo di un residuo di adenina nell'rRNA 23S. Questa metilazione probabilmente causa un cambiamento conformazionale nel ribosoma, portando ad una ridotta affinità di legame da parte di macrolidi, lincosamidi e streptogramine per 1'rRNA 50S (115). Sebbene questi tre gruppi di antibiotici non siano correlati strutturalmente, possiedono lo stesso sito e meccanismo d'azione. Questa co-resistenza è detta di tipo MLS_B (fenotipo MLS_B).

La resistenza MLS_B può essere costitutiva o inducibile; nei ceppi costitutivamente resistenti la metilasi è prodotta continuamente e tali batteri sono resistenti ai macrolidi così come a lincosamidi e streptogramine, nei ceppi inducibili è necessaria l'induzione da parte di uno degli antibiotici del gruppo, per la produzione della metilasi (63). Fenotipicamente questi microrgani-

smi sono resistenti ai macrolidi, la resistenza nei confronti di lincosamidi e streptogramine si evidenzia solo dopo induzione.

Più recentemente è stato descritto un meccanismo di efflusso macrolide-specifico dovuto al gene *mef*E, che determina il fenotipo M (115). I ceppi di *S. pneumoniae* con fenotipo M sono caratterizzati da basso livello di resistenza all'eritromicina (MIC non superiori a 16 mg/L) e da totale sensibilità alla clindamicina.

Per quanto riguarda la resistenza alle tetracicline in *S. pneumoniae*, è stato descritto il gene *tet*M , che codifica per un meccanismo di protezione ribosomiale, ed è collocato sui trasposoni coniugativi Tn 1545 e Tn 5251. Il trasposone Tn 1545 codifica per i determinanti di resistenza a eritromicina *(erm)*, kanamicina *(aph-3)* e tetraciclina-minociclina (*tet*M), il trasposone 5251 codifica per il determinante tetraciclina-minociclina (*tet*M) (101). Recentemente in Sud Africa in alcuni ceppi resistenti alla tetraciclina, ma che non possiedono il gene *tet*M, è stato descritto il gene di resistenza *tet*(O), che mostra il 99% di analogia con la sequenza nucleotidica del gene di resistenza di *Campylobacter, E. coli, C. jejeuni* e *S. mutans* (130). Questi trasposoni potrebbero essere causa di rapida disseminazione e stabilizzazione di resistenza multipla in *S. pneumoniae* in assenza di plasmidi (18).

La resistenza al cloramfenicolo è dovuta ad inattivazione dell'antibiotico attraverso acetilazione, l'enzima responsabile è l'acetiltransferasi che normalmente è codificata da un gene di natura plasmidica, mentre in S. *pneumoniae* è di origine cromosomica (63).

La resistenza ai chinoloni avviene essenzialmente attraverso mutazioni puntiformi e non è trasferibile (102). I chinoloni agiscono bloccando la sintesi del DNA. Il loro bersaglio è la Topoisomerasi II o la DNAgirasi; le modificazioni del bersaglio sono il principale meccanismo di resistenza in S. *pneumoniae.* La possibilità che, come già descritto in *S. aureus*, sia presente anche un meccanismo di efflusso attivo mediato direttamente dall'idrolisi dell'ATP o dalla forza protonmotrice è in fase di studio (135).

In ultimo, ma non meno importante, la recente descrizione di stipiti tolleranti alla vancomicina (45, 74, 89, 90), di cui uno isolato da paziente con meningite recidivante (68).

Evoluzione ed epidemiologia delle resistenze

L'introduzione in terapia della penicillina negli anni '40 ha ridotto drasticamente la mortalità per infezioni come meningite e polmonite. L'efficacia terapeutica della penicillina è stata messa in discussione dall'emergenza di ceppi penicillino-resistenti a partire dal 1967, anno in cui è stato descritto in Papua Nuova Guinea il primo ceppo di *S. pneumoniae* penicillino-resistente (42); questo ceppo con sierotipo 14, presentava una MIC alla penicillina 50-

100 volte più elevata rispetto ai ceppi sensibili. Da allora la resistenza alla penicillina è stata descritta in numerose parti del mondo e particolarmente nell'ultimo decennio, si è registrato un forte incremento della resistenza a livello mondiale.

Alti livelli di penicillino-resistenza sono stati riportati in Sud Africa, Spagna e Ungheria (>40%), Islanda (20%), mentre gli Stati Uniti hanno raggiunto il 33.5 % nel 1997 (29, 30, 31). Ad aggravare ancora di più la situazione è il fatto che la penicillino-resistenza è sovente accompagnata da resistenza anche ad altri antibiotici come macrolidi, cotrimossazolo, tetracicline e cloramfenicolo. In Spagna ed in Ungheria è stato descritto un livello di resistenza al cloramfenicolo e all'eritromicina superiore al 30%, mentre le resistenze a tetraciclina e cotrimossazolo hanno superato il 50% (29, 30, 31).

Per meglio monitorare l'incidenza della resistenza che varia nelle diverse aree geografiche sono stati messi a punto diversi sistemi di sorveglianza internazionali. Uno di questi è il *Protekt* (Prospective Resistant Organism Tracking and Epidemiology for the Ketolide Telithromycin) (29, 30, 31), che ha avuto inizio nel 1999 e che è tuttora in corso, a cui inizialmente hanno partecipato 60 centri in 25 nazioni dislocate in Europa, Asia, Nord America ed America Latina, e attualmente nell'ultimo anno di studio (2003) il numero di unità partecipanti ha raggiunto 100. Come riportato sopra, i Paesi in cui il fenomeno è più preoccupante sono: Ungheria (64.9%), Francia (62%), Spagna (53.4%), Irlanda (41.5%) e Portogallo (28.3%), per quanto riguarda il territorio europeo; gli Stati Uniti (43%) in Nord America; il Messico (56.6%) nell'America Centro-meridionale e tutti i Paesi asiatici studiati (30). Germania e Olanda rimangono le meno colpite dal fenomeno con meno del 10% di ceppi resistenti (30). I risultati del *Protekt* hanno evidenziato per l'Italia (centri partecipanti Istituti di Microbiologia delle Università di Genova e Catania) che la penicillino-resistenza in *S. pneumoniae* fino al 1999 superava di poco il 15% (70). Dati più recenti dello studio S.E.M.P.R.E. (Studio Epidemiologico per il Monitoraggio dello Pneumococco Resistente) (2000-2002) indicano nel 2000, anno di inizio dello studio, una resistenza totale del 14.2% (6.2 % basso, 7% alto livello di resistenza) (70) e nel 2002, del 16.1% (4.8% basso, 11.3% alto livello di resistenza).

Enterococchi

Generalità

Si tratta di cocchi rotondeggianti o, più spesso, ovali disposti in corte catenelle, sino a poco tempo fa classificati nel genere *Streptococcus* (gruppo D in

base all'antigene polisaccaridico di Lancefield) di cui dividono le caratteristiche metaboliche fondamentali. Solitamente non-emolitici (raramente β-emolitici) sono presenti largamente in Natura, si ritrovano costantemente nel materiale fecale dei vertebrati (uomo compreso).

Per alcune caratteristiche fisiologiche peculiari rappresentate essenzialmente dalla capacità di crescere in terreni addizionati di sali biliari o del 6,5% di NaCl, dalla capacità di svilupparsi a 45 °C e di tollerare l'esposizione a 60 °C per 30 minuti dalla peculiare composizione dell'antigene di Lancefield di gruppo D che è costituitoda acidi teicoici, nonché per l'esteso spettro di resistenza ai farmaci antibatterici, sono stati di recente classificati a parte nel genere *Enterococcus* (61).

Esistono almeno 12 specie di enterococchi. *Enterococcus faecalis* è la specie più comune e causa l'85-90% delle infezioni enterococciche, mentre *Enterococcus faecium* è responsabile di un altro 5- 10 %. Gli enterococchi rappresentano una delle cause più frequenti delle infezioni ospedaliere, in particolare nelle unità di terapia intensiva, e vengono selezionati dalla terapia con cefalosporine e altri antibiotici verso i quali essi sono resistenti (131).

Gli enterococchi vengono trasmessi da un paziente all'altro soprattutto per mezzo delle mani del personale ospedaliero, di cui alcuni possono essere portatori nel tratto gastrointestinale. Gli enterococchi talvolta vengono trasmessi con i dispositivi o gli apparecchi medicali. Nei pazienti, le più comuni sedi di infezione sono le vie urinarie, le ferite, le vie biliari e il sangue. Gli enterococchi possono causare meningite e batteriemia nei neonati. Negli adulti, gli enterococchi possono provocare endocardite. Tuttavia, nelle infezioni endoaddominali, nelle ferite, nelle urine e in altre infezioni, gli enterococchi di solito vengono coltivati assieme ad altre specie, ed in tali casi è difficile stabilire lo specifico ruolo patogeno (57, 117).

Resistenza agli antibiotici

Uno dei maggiori problemi presentati dagli enterococchi è costituito dalla loro elevata resistenza verso gli antibiotici più comunemente usati per trattare le infezioni sostenute da organismi Gram-positivi; *E. faecium* di solito è molto più antibiotico-resistente di *E. faecalis.* Questi microrganismi non sono solo intrinsecamente resistenti a un gran numero di antimicrobici, ma mostrano una grande abilità nell'acquisire nuovi meccanismi di refrattarietà ai farmaci (77).

La tabella 5 riassume le resistenze intrinseche o potenzialmente acquisibili degli enterococchi agli antibiotici (83).

Resistenza intrinseca	Resistenza acquisibile
Aminoglicosidi (basso livello)	Aminoglicosidi (alto livello)
β-lattamici (MIC relativamente alte)	β-lattamici (PBP alterate)
Lincosamidi (basso livello)	Agenti attivi sulla parete cellulare (tolleranza)
Trimethoprim-sulfamethoxazolo (solo in vivo)	Fluorochinoloni
	Lincosamidi (alto livello)
	Macrolidi
	Penicillina ed ampicillina (β-lattamasi)
	Rifampicina
	Tetracicline
	Vancomicina

Tabella 5. Antibiotico-resistenza negli enterococchi.

Resistenza intrinseca

Gli enterococchi sono intrinsecamente resistenti alle cefalosporine, alle penicilline penicillinasi-resistenti e ai monobattamici. Essi presentano inoltre una resistenza intrinseca a basso livello a molti aminoglicosidi. Mostrano sensibilità intermedia o sono resistenti ai fluorochinoloni, e sono meno sensibili degli streptococchi (da 10 a 1000 volte) a penicillina e ampicillina. Gli enterococchi sono generalmente inibiti, ma non uccisi, dagli antibiotici β-lattamici (ad esempio, ampicillina).

Resistenza agli aminoglicosidi

Gli enterococchi sono naturalmenti resistenti agli aminoglicosidi in quanto scarsamente produttori di ATP. Poiché questi farmaci necessitano di trasporto attivo energia-dipendente per entrare nella cellula batterica, quando l'energia non è sufficiente il farmaco non riesce a giungere a contatto con il suo bersaglio.

La terapia con un'associazione di antibiotici attivi contro la parete cellulare (penicillina o vancomicina) più un aminoglicoside (streptomicina o gentamicina) è essenziale nelle infezioni gravi enterococciche, come l'endocardite. Sebbene gli enterococchi abbiano un'intrinseca resistenza a basso livello verso gli aminoglicosidi (MIC di 4-500 μg/ml), presentano una sensibilità sinergica

quando sono trattati con un antibiotico attivo sulla parete cellulare più un aminoglicoside. Tuttavia, alcuni enterococchi presentano una resistenza ad alto livello verso gli aminoglicosidi, resistenza che compromette il risultato sinergico dell'associazione. Questa resistenza ad alto livello nei confronti degli aminoglicosidi è dovuta ad enzimi modificanti che alterano gli aminoglicosidi.

I geni che codificano per molti di questi enzimi si trovano di solito situati su plasmidi coniugativi o trasposoni. Gli enzimi esercitano diverse attività contro gli aminoglicosidi. La resistenza alla gentamicina e alla streptomicina non predice la resistenza agli altri aminoglicosidi. I ceppi di enterococchi isolati da infezioni gravi devono essere sottoposti a saggio di valutazione della resistenza ad alto livello di gentamicina (MIC > 500 μg/ml) e streptomicina (MIC > 1000 μg/ml) allo scopo di predire l'efficacia terapeutica di questi antibiotici (83).

Resistenza alla vancomicina

Il glicopeptide vancomicina (o teicoplanina) è il più importante antibiotico alternativo alla penicillina (più un aminoglicoside) per il trattamento delle infezioni da enterococco. Negli Stati Uniti, è aumentata la frequenza degli enterococchi resistenti alla vancomicina. Questi enterococchi non sono sinergicamente sensibili alla vancomicina più un aminoglicoside. La vancomicino-resistenza è più frequente fra i ceppi di *E. faecium*, ma si riscontrano pure ceppi di *E. faecalis* vancomicino-resistenti.

Esistono diversi fenotipi di resistenza alla vancomicina, ad esempio: il fenotipo VanAè caratterizzato da una resistenza inducibile ad alto livello alla vancomicina e alla teicoplanina. Il fenotipo VanB dà resistenza inducibile alla vancomicina ma sensibilità alla teicoplanina. I ceppi VanC presentano una resistenza da intermedia a moderata a vancomicina. VanC è costitutivo nelle specie meno frequentemente isolate: *Enterococcus gallinarum* (VanC-1), *Enterococcus casseliflavus* e *Enterococcus flavescens* (VanC-2, VanC-3). Il fenotipo VanD è caratterizzato da una moderata resistenza a vancomicina e da una resistenza a basso livello o suscettibilità a teicoplanina.

La teicoplanina è un glicopeptide che presenta molte caratteristiche simili alla vancomicina. E' disponibile per i pazienti in Europa ma non negli Stati Uniti. Essa ha inoltre importanza per le ricerche sulla vancomicino-resistenza negli enterococchi.

Vancomicina e teicoplanina interferiscono con la sintesi della parete cellulare nei batteri gram-positivi mediante interazione con il gruppo D-alanil-D-alanina (D-Ala-D-Ala) delle catene polipeptidiche, che costituiscono dei precursori del peptidoglicano.

Il determinante meglio studiato della resistenza alla vancomicina è l'operone VanA. Si tratta di un sistema di geni ammassati in un plasmide autotrasferibile contenente un trasposone strettamente correlato con Tn/546. Vi sono due geni che codificano per una trasposasi ed una resolvasi; i rimanenti sette geni codificano per la resistenza alla vancomicina e per proteine acces-

sorie. I geni vanR e vanS sono due sistemi regolatori a due componenti sensibili alla presenza di vancomicina o di teicoplanina nell'ambiente. VanH, vanA e vanX sono necessari per la vancomicina-resistenza. VanH e vanA codificano per proteine che portano alla sintesi del dipeptide terminale D-Ala-D-lattato piuttosto che il normale D-Ala-D-Ala. D-Ala-D-lattato, quando è legato a UDP-muramil-tripeptide, forma un pentapeptide precursore che vancomicina e teicoplanina non legano e VanX codifica per una dipeptidasi. VanY e vanZ non sono essenziali per la resistenza alla vancomicina. VanY codifica per una carbossipeptidasi che scinde il D-ala terminale dal pentapeptide, riducendo la concentrazione di qualunque pentapeptide funzionale, eventualmente prodotto mediante il normale processo di costruzione della parete cellulare. VanZ è probabilmente un gene coinvolto maggiormente nella resistenza alla teicoplanina. VanA, VanB e VanD codificano per D-Ala-D-Lac, mentre VanC e VanE codificano per D-Ala-D-Ser (83).

Produzione di β-lattamasi e resistenza ai β-lattamici

Ceppi di *E. faecalis* produttori di β-lattamasi sono stati isolati assai raramente da campioni di pazienti negli Stati Uniti e in altri Paesi. Esiste una grande variabilità geografica. I ceppi isolati nelle regioni nord-orientali e meridionali degli Stati Uniti sembrano derivare dalla disseminazione di un singolo ceppo e fanno ritenere che vi sia stata una diffusione ad altre aree geografiche. Il gene che codifica per la β-lattamasi enterococcica è lo stesso gene trovato in *Staphylococcus aureus*. Il gene è costitutivamente espresso negli enterococchi e inducibile negli stafilococchi. Poiché gli enterococchi possono produrre piccole quantità dell'enzima, questi ceppi β-lattamasi positivi possono risultare sensibili a penicillina e a ampicilina negli antibiogrammi eseguiti routinariamente. La β-lattamasi può essere evidenziata utilizzando nel saggio di sensibilità un inoculo particolarmente concentrato e il saggio del nitrocefin (cefalosporina cromogenica) o mediante altri procedimenti di biologia molecolare. I geni che codificano per questo carattere sono situati su plasmidi coniugativi e possono essere trasferiti da un ceppo di enterococco all'altro. Le infezioni causate da enterococchi produttori di β-lattamasi possono essere trattate con combinazioni di penicillina e inibitori della lattamasi o con vancomicina e streptomicina, quando sia stata dimostrata la loro sensibilità in vitro (10, 83).

Resistenza al trimethoprim-sulfametoxazolo

Durante l'esecuzione degli antibiogrammi in vitro, gli enterococchi spesso si dimostrano sensibili a trimethoprim-sulfametoxazolo, mentre questi farmaci non risultano efficaci nella terapia delle infezioni. Questa discrepanza è dovuta al fatto che gli enterococchi sono capaci di utilizzare i folati esogeni disponibili in vivo e pertanto sfuggono all'inibizione esercitata da trimethoprim-sulfametoxazolo (117).

Staphylococcus aureus

Generalità

E' un microrganismo di forma rotondeggiante Gram-positivo. Rosenbach adottò per questo genere il nome di stafilococco data la caratteristica morfologia di cocchi riuniti a grappolo (dal greco Stafule= grappolo). Raramente gli stafilococchi si presentano sotto forma di catenelle o come elementi singoli, sono inoltre immobili e privi di capsula evidente, aerobi, asporigeni.

La suddivisione in specie nell'ambito del genere *Staphylococcus* è basata sui seguenti criteri: produzione di coagulasi e fermentazione del mannitolo (5, 127).

S. aureus si distingue dagli altri stafilococchi per l'attività coagulasica posseduta dal 99% degli stipiti e per la capacità di metabolizzare il mannitolo. Questo patogeno Gram-positivo cresce bene a 35° C nei comuni terreni di coltura (agar-sangue, dove produce un'evidente emolisi). E' anaerobio facoltativo anche se lo sviluppo ottimale si ha in aerobiosi. Nei substrati solidi sintetizza un pigmento che colora di giallo oro le colonie rotondeggianti e lisce.

Tale pigmentazione non ha valore tassonomico. Carattere peculiare, condiviso peraltro con gli altri appartenenti alla famiglia, è l'alofilia ovvero la tolleranza ad elevate concentrazioni di cloruro di sodio (fino al 10%) rispetto a molti altri ceppi batterici. Questa caratteristica può essere utilizzata per allestire terreni selettivi.

S. aureus è un microrganismo che, tra i non sporigeni, ha la maggior capacità di sopravvivenza nell'ambiente (5, 127). L'habitat primario è rappresentato dalla cute e dalla mucosa nasofaringea di individui sani (30%); in ospedale i pazienti e il personale sanitario hanno positività leggermente superiore. Tale microrganismo elabora una quantità notevole di enzimi paragonabile, tra i gram-negativi, a quella di *Pseudomonas aeruginosa*, che gli consentono una pressoché illimitata capacità di colonizzare i più disparati ambienti. Tali versatili proprietà biochimiche diventano micidiali quando *S. aureus* esprime la sua potenza in ambiente clinico ove rappresenta un microrganismo tra i più temuti, specie in ambiente nosocomiale ed in particolare nei reparti di terapia intensiva.

S. aureus è spesso coinvolto nelle infezioni dei tessuti molli: impetigine, celluliti, o infezioni di ferite, ascessi. Causa osteomieliti, artriti, polmoniti, setticemie, sindrome da cute ustionata, shock tossico e intossicazioni alimentari (2, 67, 72).

Molti metaboliti prodotti sono sotto il diretto controllo del genoma, ma per altri la codificazione è regolata da elementi extracromosomici di cui *S. aureus* è un notevole ospite e veicolo, nonchè da elementi trasponibili.

Diverse sostanze sono enzimi che sono utilizzati per demolire i tessuti e invadere l'ospite (ialuronidasi, stafilochinasi, proteinasi, lipasi, ecc.) o per proteggersi e contrastare le difese dell'organismo (coagulasi, leucocidine, internalizzazione nelle cellule epiteliali ecc). Altre sono vere e proprie tossine come quelle alimentari o capaci di notevoli danni generalizzati a molte cellule, dalle emazie a quelle epiteliali, a composti che sono responsabili della sindrome del shock tossico (TSST-1) con caratteristiche di superantigene, capace cioè di legarsi sia alle immunoglobuline sia al principale antigene di istocompatibilità delle cellule dell'ospite scatenando massicci processi autoimmuni.

Il meccanismo d'azione patogena di *S. aureus* è molto complesso e strettamente legato alla composizione della parete. Fattori di virulenza sono rappresentati da proteine associate alla parete (proteina A, proteine leganti collagene e fibronectina) e alla produzione di esoenzimi e di tossine extracellulari (29, 32). Oltre agli acidi teicoici ed ai polisaccaridi presenti nella parete cellulare, spesso rivestita da uno strato mucopolisaccaridico "slime" capace di aderire con estrema affinità a superfici di natura idrofobica (cateteri, plastiche, corpi estranei in generale), *S. aureus* presenta la proteina A che si lega al frammento Fc delle immunoglobuline G inibendo l'attivazione del complemento e quindi l'opsonizzazione. Tra i fattori liberati nell'ambiente si annoverano: Tossina β (emolisina β), Tossina β (emolisina β), Tossina β (emolisina β), Tossina β (emolisina β), Leucotossine distinte in leucocidina R e in leucocidina Panteon-Valentine, Tossina esfoliativa (epidermolitica), Tossine pirogeniche e TSST 1 (toxic shock syndrome toxin 1) prodotta da alcuni stipiti di *S. aureus*.

Le enterotossine sintetizzate in circa il 50% dei ceppi sono distinte immunologicamente in cinque sierotipi (A,B,C,D,E). Tutte estremamente termostabili ed inattaccabili da enzimi proteolitici. Si rendono responsabili di episodi di tossinfezione alimentare con sintomatologia che compare da 1 a 6 ore dopo l'ingestione di alimenti contenenti la tossina (29, 32).

La coagulasi favorisce la formazione di un involucro di fibrina attorno al corpo batterico quale ulteriore protezione nei confronti dei polimorfonucleati. Sempre con lo stesso meccanismo, tende a localizzare l'infezione piogenica.

S. aureus può produrre anche altri enzimi extracellulari quali: catalasi, stafilochinasi, jaluronidasi, nucleasi, lipasi e proteasi che favoriscono l'ingresso del microrganismo nell'ospite ed il suo sviluppo (5, 127).

S. aureus è un batterio ubiquitario e normalmente presente in individui sani per cui la popolazione presenta spesso anticorpi proteggenti che ne ostacolano la patogenicità (5, 127). Tuttavia, questo germe può dar luogo ad un'ampia gamma di infezioni che includono: foruncoli, favi, follicoliti, ascessi cutanei, osteomielite ematogena, osteomieliti postraumatiche, infezioni

delle prime vie respiratorie, otiti, sinusiti, cistiti, pielonefriti, ascessi renali, ascessi cerebrali, epidurali, meningite, infezioni post-operatorie, la sindrome da shock tossico e intossicazioni alimentari (5, 127).

Evoluzione della resistenza antibiotica

Nel 1940, anno di introduzione della penicillina, tutti gli *S. aureus* isolati erano sensibili, ma in soli 5 anni il 50 % di organismi coltivati avevano acquisito la capacità di crescere in presenza di tale antibiotico grazie ad un enzima codificato da un plasmide (53). La molecola della penicillina possiede un legame β-lattamico incorporato ad un anello β-lattamico che è il tallone d'Achille di questo antibiotico (molti batteri possono produrre enzimi β-lattamici che aprendo l'anello β-lattamico ne inattivano l'effetto).

I primi tentativi di ingegneria molecolare compiuti dalla ricerca farmaceutica per ovviare il problema delle β-lattamasi è stato quello di mutare con piccole alterazioni la struttura delle molecole antibiotiche, ma la straordinaria capacità dei batteri a riadattare le proprie β-lattamasi alla nuova struttura e conformazione molecolare giustifica il fatto che siano uscite tre generazioni di cefalosporine. Le β-lattamasi riescono ad essere espresse con una straordinaria flessibilità in relazione al bersaglio. E' sufficiente una singola mutazione del gene delle β-lattamasi per mutare la specificità di substrato dell'enzima rendendolo atto a colpire il nuovo bersaglio, ovvero l'antibiotico di nuova generazione.

Nel 1959 la disponibilità di un nuovo farmaco, la meticillina aprì un nuovo capitolo nella terapia antibiotica infatti tutti gli *S. aureus*, inclusi i penicillinasi produttori, erano sensibili a questa molecola.

La resistenza alla meticillina venne segnalata nel 1961 da Jevons quando rilevò tre ceppi di *S. aureus* meticillino-resistenti in uno screening di 5440 ceppi di *S. aureus* (53). La meticillino-resistenza è associata alla produzione di una PBP aggiuntiva (PBP2a) che può sostituire le altre PBP quando sono saturate dall' antibiotico ed è in grado di continuare da sola l'assemblaggio della parete batterica. Il determinante genetico mec (collocato su un trasposone) spesso non esprime il fenotipo a meno che la produzione di PBP2a non sia indotta dalla presenza di β-lattamici, di cloruro di sodio o in un ambiente mantenuto a temperatura di 30°C. In assenza di induzione, la resistenza può essere espressa o da tutte le cellule e in tal caso è detta costitutiva oppure da una parte della popolazione batterica e in tal caso è denominata eteroresistenza (53, 121). La meticillino-resistenza, considerata originariamente come curiosità di laboratorio, ben presto assunse, con il passare del tempo, connotati drammatici a causa della diffusione e dei limiti che impone sulle opzioni terapeutiche per il trattamento delle infezioni da *S. aureus* meticilli-

no- resistenti (MRSA), (i ceppi meticillino-resistenti sono insensibili a tutti i β-lattamici).

Attualmente in molti paesi, tra cui l'Italia, l'incidenza di ceppi MRSA supera il 40% (35, 69, 93, 112).

I ceppi MRSA, di riscontro frequente negli ospedali delle grandi città e nell'assistenza terziaria, isolati di solito in pazienti tossicodipendenti infetti e in pazienti ricoverati in reparti di terapia intensiva, sono difficili da eradicare in quanto esprimono resistenza a tutti i β-lattamici, ma anche perché contemporaneamente possono essere insensibili ad altri agenti come i macrolidi, rifampicine, tetracicline, chinoloni e aminoglicosidi. E' da sottolineare che di recente questo problema non è più riscontrabile esclusivamente a livello nosocomiale poiché è in crescita la percentuale di meticillino-resistenti di origine comunitaria (126, 132).

I glicopeptidi e in particolar modo la vancomicina e la teicoplanina, a partire dagli anni '80, sono stati considerati i farmaci di ultima risorsa nei confronti degli stafilococchi meticillino-resistenti e per il trattamento di infezioni gravi sostenute da batteri Gram-positivi (100, 105). La vancomicina ha una lenta azione battericida dovuta a inibizione della sintesi della parete cellulare. L'azione è massima per i batteri in fase di crescita esponenziale.

E' prodotta da actinomiceti e agisce bloccando il trasferimento dell'unità basale del peptidoglicano dal vettore lipidico alla zona di accrescimento.

A tutt'oggi vancomicina e teicoplanina sono i farmaci di scelta per infezioni gravi provocate da germi gram-positivi resistenti alle penicilline e alle cefalosporine e da *S. aureus* resistenti alla meticillina.

Resistenza ai glicopeptidi

Negli Stati Uniti l'ampio utilizzo di vancomicina ha causato l'insorgenza di enterococchi vancomicino-resistenti con frequenza sempre più crescente suscitando preoccupazione nella comunità medica (64, 125). Tali ceppi sono stati descritti anche in Europa seppur più limitatamente (37).

La possibilità che plasmidi trasferibili contenenti la resistenza VanA trasmettessero questa proprietà da ceppi di enterococchi a ceppi *S. aureus* meticillino-resistenti fu descritta da Noble nel 1992 in stipiti di laboratorio (88). I primi ceppi clinici con ridotta sensibilità a teicoplanina furono descritti nel 1990, si trattava di due casi di setticemia causati da *S. haemolitycus* ed *S. aureus* in pazienti neutropenici i quali non risposero al trattamento iniziale con teicoplanina, ma guarirono completamente dopo somministrazione di vancomicina (8). Altri ceppi di stafilococchi coagulasi-negativi con ridotta sensibilità sia alla vancomicina che alla teicoplanina sono stati descritti nell'ambito di alcuni studi epidemiologici (25, 82, 110, 124). Il meccanismo di

resistenza alla vancomicina in *S. haemolyticus* e in altri cocchi gram-positivi non enterococcali è cromosomicamente codificato e non è correlato con la resistenza mediata dal plasmide in *E. faecium* ed *E. faecalis* (95).

Nel 1996 in Giappone viene isolato un ceppo di *S. aureus* meticillino-resistente, con ridotta sensibilità alla vancomicina (46). Il ceppo presentava in vitro una MIC di 8 mg/l alla vancomicina (ceppo intermedio), ma non sono stati identificati geni in grado di conferire questo fenotipo denominato VISA (vancomycin-intermediate *S. aureus*).

Dal 1997 ad oggi sono stati descritti pochi altri VISA o eteroVISA (3, 12, 47, 96, 110).Per quanto riguarda il meccanismo della ridotta sensibilità alla vancomicina in *S. aureus* (VISA), studi condotti su mutanti ottenuti “in vitro'” e su ceppi clinici, indicano che la resistenza potrebbe essere dovuta primariamente ad alterazioni a carico della parete (ispessimento osservabile in microscopia elettronica). Per i ceppi VISAsono stati descritti: un aumento dei precursori mureinici monomerici, un aumento della produzione delle PBP2 e PBP2' e l'assenza della PBP4. Tutti questi fenomeni concorrerebbero al cosiddetto "trapping effect": la vancomicina troverebbe dei siti di legame a livello della parete, rimanendone intrappolata senza raggiungere il suo bersaglio (41, 108, 109).

Infine nel 2002, negli Stati Uniti, si è giunti al temuto isolamento dei primi ceppi resistenti alla vancomicina (VRSA) portatori del gene vanA acquisito dall’enterococco (6, 13, 14, 76, 120).

Nonostante le problematiche di resistenza agli antibiotici siano note da tempo, spesso si verificano casi di insufficiente identificazione e considerazione da parte degli operatori del settore sull’importanza della corretta valutazione della resistenza alla meticillina e, oggi, alla vancomicina. Per l’identificazione di questi fenotipi di resistenza sono necessari saggi specifici che vanno inclusi nella routine. Esistono ormai pubblicazioni accessibili a tutti, laboratori e clinici, perché da entrambe le parti si operi di concerto un’azione comune per accertare correttamente la resistenza agli antibiotici sia in *S. aureus*, sia in molti altri germi opportunisti.

Enterobacteriaceae

Generalità

Le *Enterobacteriaceae* rappresentano un vasto gruppo eterogeneo di bacilli gram-negativi che abitualmente risiedono nell'intestino dell'uomo e degli animali. Questa famiglia comprende molti generi (*Escherichia coli, Shigella,*

Salmonella, Enterobacter, Klebsiella, Serratia, Proteus e altri). Alcuni microrganismi enterici, ad esempio, *Escherichia coli*, fanno parte della popolazione microbica normale e accidentalmente sono patogeni, mentre altri, le shigella e le salmonella, lo sono regolarmente per l'uomo. Gli enterobatteri sono aerobi o anaerobi facoltativi, fermentano numerosi carboidrati, possiedono una complessa struttura antigenica e producono molte tossine ed altri fattori di virulenza.

Le *Enterobacteriaceae* rappresentano il gruppo dei bacilli gram-negativi di più frequente isolamento nei laboratori di batteriologia clinica, e, con gli stafilococchi e gli streptococchi, costituiscono i microrganismi patogeni più comuni. La tassonomia delle *Enterobacteriaceae* è complessa e soggetta a frequenti modificazioni dopo la comparsa delle tecniche che misurano la distanza evolutiva, come l'ibridizzazione e il sequenziamento dell'acido nucleico. Finora sono stati identificati 25 generi e oltre 110 specie o gruppi; tuttavia fra queste *Enterobacteriaceae* solo 20-25 sono le specie veramente importanti dal punto di vista clinico, mentre altre sono di raro riscontro. I microrganismi appartenenti alla famiglia delle *Enterobacteriaceae* possiedono i seguenti caratteri: sono bastoncini gram-negativi, mobili con flagelli peritrichi o immobili; crescono in terreno peptonato o contenente estratto di carne senza aggiunta di sodio cloruro o di altri supplementi; crescono bene su agar MacConkey, in aerobiosi ed in anaerobiosi (sono anaerobi facoltativi); fermentano - più che ossidare - il glucosio, spesso con produzione di gas; sono catalasi-positivi, ossidasi-negativi, e riducono il nitrato in nitrito; ed hanno un contenuto G+C DNA di 39-59% (26, 27).

Le *Enterobacteriaceae* presentano una struttura antigenica piuttosto complessa. Vengono classificate in base a oltre 150 differenti antigeni somatici O termostabili (lipopolisaccaride), oltre 100 antigeni K termolabili (capsulari) e oltre 50 antigeni H (flagellari).

In *Salmonella typhi* gli antigeni capsulari sono chiamati vi.

Gli antigeni O costituiscono la parte più esterna del polisaccaride della parete cellulare e sono costituiti da ripetute unità di polisaccaride. Alcuni polisaccaridi O-specifici contengono un unico zucchero. Gli antigeni O sono resistenti al calore e all'alcool e di solito vengono evidenziati mediante agglutinazione batterica. Gli anticorpi contro gli antigeni O appartengono prevalentemente alle lgM.

Mentre ciascun genere di *Enterobacteriaceae* è associato con uno specifico gruppo O, un singolo microrganismo può trasportare diversi antigeni O. Pertanto gran parte delle *Shigelle* hanno in comune con *E. coli* uno o più antigeni O. *E. coli* può reagire in maniera crociata con alcune specie *Providencia, Klebsiella, Salmonella*.

Talvolta gli antigeni O possono essere associati con specifiche malattie umane, ad esempio tipi specifici O di *E. coli* si riscontrano nella diarrea e nelle infezioni delle vie urinarie.

Gli antigeni K si trovano all'esterno degli antigeni O in alcune *Enterobacteriaceae,* ma non in tutte. Alcuni sono polisaccaridi, compresi gli antigeni K di *E. coli*; altri sono proteine. Gli antigeni K possono interferire con l'agglutinazione da parte degli antisieri O, e possono essere associati con la virulenza.

Le *klebsielle* formano grandi capsule composte da polisaccaridi (antigeni K) che coprono gli antigeni somatici (O oppure H) e possono essere identificate mediante il test di rigonfiamento capsulare, ricorrendo ad antisieri specifici.

Nell'uomo le infezioni delle vie respiratorie sono causate particolarmente dai tipi capsulari 1 e 2; quelle delle vie urinarie dai tipi 8, 9, 10 e 24.

Gli antigeni H sono situati sui flagelli e vengono denaturati o rimossi con l'alcool o con il calore. Essi sono conservati mediante il trattamento delle varianti mobili con la formalina. Tali antigeni H agglutinano con gli anticorpi anti-H, in particolare della classe IgG. I determinanti degli antigeni H sono una funzione della sequenza degli aminoacidi nelle proteine flagellari (flagellina).

In ciascun sierotipo gli antigeni flagellari possono esse-re presenti in una delle due o in entrambe le forme, chia-mate fase 1 (convenzionalmente designata con lettere minuscole) e fase 2 (convenzionalmente designata con numeri arabi). I microrganismi tendono a passare da una fase all'altra e questo fenomeno prende il nome di variazione di fase.

Gli antigeni H presenti sulla superficie batterica possono interferire con l'agglutinazione da anticorpi anti-O.

Esistono molti esempi di sovrapposizione delle strutture antigeniche fra le *Enterobacteriaceae* e altri batteri. Numerose *Enterobacteriaceae* hanno in comune l'antigene 014 di *E. coli*. Il lipopolisaccaride cupsulare di tipo 2 delle *klebsielle* è molto simile al polisaccaride di tipo 2 dello pneumococco. Alcuni antigeni K reagiscono in maniera crociata con i polisaccaridi capsulari di *Haemophilus influenzae* o di *Neisseria meningitidis*. Pertanto *E. coli* 075: K100: H5 può provocare la formazione di anticorpi che reagiscono con *H. influenzae* di tipo b (26, 27, 54).

Patogenicità e manifestazione cliniche

Il meccanismo dell'azione patogena degli enterobatteri è estremamente complesso. In esso certamente intervengono l'attività antifagocitaria delle strutture di superficie (polisaccaridi dello strato mucoso o della capsula), l'adesività legata alla presenza di fimbrie specifiche, la multiforme tossicità della endotossina di cui è responsabile la porzione lipidica del lipopolisaccaride superficiale e, in qualche caso, la elaborazione di tossine proteiche. Inoltre è possibile che vi giochi un ruolo, di peso imprecisabile, ma spesso almeno apparentemente decisivo, la particolare fisionomia antigenica del

batterio, la quale sembra condizionare (mimetismo antigene) chiaramente la patogenicità di determinati enterobatteri (61).

Gli enterobatteri sono coinvolti in una serie di manifestazioni morbose umane che, schematicamente, possono essere divise come segue.

1. Infezioni sistemiche: sono rappresentate dalle così dette febbri enteriche (tifo e paratifo) in cui l'interessamento dell'intestino si accompagna o è conseguente ad una diffusione dell'infezione a tutto l'organismo (per via ematica e/o linfatica) con localizzazioni extraintestinali (epatiche).

2. Infezioni primitivamente ed esclusivamente intestinali: sono rappresentate da varie forme di enteriti o gastro-enteriti (ancorchè la dizione: gastro-enteriche, non sia la più idonea, in quanto la presenza di sintomi gastrici, come il vomito, non si accompagna a lesioni della mucosa gastrica e tanto meno ad una localizzazione gastrica dell'infezione) causate dai batteri dei generi *Salmonella* e *Shigella* ed alcuni stipiti di *Escherichia coli*. Le enteriti da enterobatteri fanno parte di una vasta gamma di sindromi morbose ad eziologia microbica multipla, caratterizzate fondamentalmente da sintomi diarroici e/o dissenterici presenti in un ampio spettro di possibili combinazioni, le quali sono ampiamente diffuse, particolarmente in aree geografiche a basso standard economico sociale, di vita, e presentano sovente un'elevata mortalità, soprattutto nella prima infanzia.

3. Infezioni a localizzazione extraintestinale: sono rappresentate principalmente da infezioni urinarie (cistiti, cisto-pieliti, pieliti), nella grandissima maggioranza dei casi sostenute da Escherichia coli. Alle infezioni urinarie, soprattutto in questi ultimi anni, si sono aggiunte tutta una serie di infezioni di tipo "opportunistico", particolarmente frequenti come infezioni nosocomiali, rappresentate da varie infezioni respiratorie, sovrainfezioni di ferite (chirurgiche e non), infezioni susseguenti a manovre endoscopiche strumentali, ecc., nelle quali gli enterobatteri non enteropatogeni giocano un ruolo eziologico fondamentale insieme a diversi altri bacilli gram-negativi non fermentanti (Pseudomonas, ecc.) (61).

Resistenza agli antibiotici

I bacilli gram-negativi sono tra le cause più frequenti ed importanti di infezioni nosocomiali; molti di questi patogeni hanno sviluppato resistenza ai β-lattamici attraverso piccoli cambiamenti nella struttura degli enzimi che loro già possiedono (usualmente le β-lattamasi TEM 1, TEM 3 e SHV 1) (34).

Queste nuove β-lattamasi a spettro esteso (ESBL) sono state isolate soprattutto nei reparti di terapia intensiva e stanno aumentando in frequenza particolarmente tra le specie di Klebsiella e in altre *Enterobacteriaceae* come *E. Coli, Proteus, Providencia e Citrobacter* (94, 106).

Le ESBL sono localizzate su plasmidi trasmissibili i quali, potendo porta-

re su di sè altri fattori di resistenza, sono spesso causa di insorgenza di ceppi multiresistenti.

Gli organismi produttori di ESBL possono disseminarsi facilmente nei reparti che usano ampiamente le cefalosporine a spettro esteso. Gli stipiti di Enterobacter sono in grado di produrre una cefalosporinasi inducibile cromosomiale di tipo I che conferisce resistenza a quasi tutti i β-lattamici, incluse le cefalosporine di III generazione e alle combinazioni con gli inibitori delle β-lattamasi. Inoltre *Citrobacter*, diverse specie di *Serratia*, di *Proteus* indolo-positivo e *P. aeruginosa* posseggono il gene ampC (cefalosporinasi); la β-lattamasi AmpC non è normalmente prodotta ad alte concentrazioni, ma la produzione dell'enzima può essere indotta quando gli organismi sono esposti alle più nuove cefalosporine, producendo ceppi che sono resistenti a numerosi β-lattamici (7, 44, 55, 65, 111, 119).

La sensibilità di un microrganismo alle più nuove cefalosporine può essere indicata da semplici test di routine; è appunto tramite questi test che si è osservata la resistenza alle cefalosporine da parte di organismi producenti AmpC e ESBL. E' da specificare che molti saggi di sensibilità in vitro usati nei laboratori di microbiologia clinica non rivelano questa resistenza. In particolare, metodi automatizzati rapidi (ridotto periodo di incubazione) o semiautomatizzati e saggi di microdiluizione nei quali è testato un basso inoculo di organismi (105 CFU / ml), possono produrre falsi negativi.

La corretta identificazione in laboratorio di questi microrganismi richiede particolare attenzione (16, 34, 65, 75, 95, 119). In Italia un recente studio epidemiologico atto a valutare la diffusione di ESBL nel nostro Paese ha messo globalmente in evidenza l'incidenza di stipiti produttori pari al 6% che sale al 38% in *Klebsiella pneumoniae* (111).

Pseudomonas aeruginosa

Morfologia e generalità

E' un bastoncino Gram-negativo, aerobio stretto, mobile per flagelli polari e fimbrie, asporigeno, ossidasi positivo, talora provvisto di capsula lassamente organizzata che conferisce alle colonie un aspetto mucoide. Produce alcuni pigmenti tra cui, caratteristica, la piocianina di colore verde. A causa delle sue enormi e versatili capacità biochimiche non presenta esigenze colturali particolari ed è pertanto diffuso in natura soprattutto negli ambienti umidi (suolo, acque, piante, animali, uomo compreso). Può moltiplicarsi e contaminare acqua distillata, disinfettanti, soluzioni per infusione endovenosa e strumentario chirurgico. Le colonie sviluppatesi su terreni comuni si pre-

sentano sfrangiate, emanano caratteristico odore di frutta e spiccano sul terreno modificato dalla diffusione dei pigmenti che, singolarmente o associati, sono prodotti dal germe (piocianina, pioverdina, piorubrina, ecc.) (24, 56, 97).

Pseudomonas aeruginosa si comporta da patogeno opportunista ed è pertanto rara l'infezione in soggetti immunocompetenti. In presenza di soluzioni di continuità della cute o delle mucose (ferite), tuttavia, è assai difficile impedire o prevenire la colonizzazione e la diffusione di questo patogeno. Esso è infatti dotato di pili che consentono le prime fasi di adesione agli epiteli e di strati esopolisaccaridici (alginato nel glicocalice dei ceppi tipici dei pazienti affetti da fibrosi cistica) che, oltre a costituire una difesa contro la fagocitosi e l'attività anticorpale, funzionano come fattori schermanti nei confronti di molti antibiotici. Nella patogenesi delle infezioni rivestono grande rilevanza le tossine, gli enzimi extracellulari ed il lipopolisaccaride parietale. In particolare sono note:

- l'esotossina A che inibisce la sintesi proteica con un meccanismo assimilabile a quello della tossina difterica (ADP-ribosilazione del fattore 2 di allungamento delle catene polipeptidiche), e possiede attività necrotizzante, è riconosciuta come il principale fattore di virulenza;
- l'esotossina S, simile alla precedente nel meccanismo d'azione molecolare, oltre ad essere citotossica aumenta l'invasività dei ceppi nei pazienti ustionati e danneggia il parenchima in corso di infezioni croniche del polmone;
- l'elastasi e la proteasi alcalina, enzimi con attività necrotizzante su tessuti e vasi, idrolizzano collagene, fattori del complemento ed immunoglobuline;
- la fosfolipasi C (emolisina termolabile) ed il glicolipide (emolisina termostabile) dotati di spiccata attività su lipidi e lecitine, in particolare sul surfactante polmonare, contribuiscono in maniera determinante alla patogenesi della polmonite da *P. aeruginosa*;
- i pigmenti idrosolubili, attraverso la mediazione di radicali liberi tossici, hanno azione distruttiva sugli epiteli, specialmente quelli ciliati delle vie aeree;
- il lipopolisaccaride, immunogeno come la esotossina A, è infine responsabile di manifestazioni analoghe a quelle prodotte da altri patogeni Gram-negativi (febbre, shock, ipotensione, coagulazione intravascolare disseminata). Esso possiede una tossicità minore rispetto alle endotossine delle *Enterobacteriaceae* (24, 38, 50, 56, 97).

Pseudomonas aeruginosa è responsabile del 10-20% circa delle così dette "infezioni nosocomiali", termine con il quale vengono globalmente indicate le infezioni che si contraggono durante il soggiorno in ospedale da parte dei pazienti che vi vengono ricoverati per altre cause.

L'importanza di *P. aeruginosa* come patogeno nosocomiale è ben evidenziata dal fatto che tale microrganismo è effettivamente il più frequente germe isolato da infezioni ospedaliere.

Le varietà mucose provocano infezioni respiratorie o sovrainfezioni in pazienti con bronchiti croniche e bronchiectasie.

Nella fibrosi cistica, quadro a carattere genetico delle ghiandole esocrine associato nell'albero respiratorio a produzione di muco eccessivamente viscoso, le infezioni da ceppi che sintetizzano un glicocalice di alginato sono estremamente frequenti, difficili da eradicare e causano elevata morbilità e mortalità in questi pazienti.

Negli ustionati gravi *Pseudomonas aeruginosa* può contaminare le superfici esposte con successiva disseminazione sistemica, spesso letale.

La setticemia, a partenza da soluzioni di continuità anche dovute a cateterizzazioni, è un'eventualità da temere specie in pazienti ematooncologici, immunodepressi, chirurgici e nei neonati prematuri.

Endocarditi possono insorgere nei tossicodipendenti o in seguito a manovre chirurgiche. Le infezioni urinarie complicate sono quasi sempre associate a cateterizzazione in ambiente nosocomiale, anche se una certa quota può avere origine ematogena. Più rare, ma non per questo da sottovalutare, sono le infezioni endooculari, del sistema nervoso centrale, delle articolazioni e del tessuto osseo alla cui origine stanno spesso manovre invasive chirurgiche. Infine tra le infezioni che si verificano in ambiente comunitario si annovera l'otite esterna dei nuotatori, in cui la macerazione, dovuta a permanenza di acqua nel condotto uditivo, crea un habitat idoneo al proliferare del patogeno con frequenti recidive. Quest'ultima localizzazione, che comporta una prognosi più grave, si può osservare anche nel paziente diabetico (38, 50, 56, 97).

Resistenza agli antibiotici

L'esecuzione dell'antibiogramma per *P. aeruginosa* è obbligatorio per guidare la terapia in quanto il microrganismo, oltre a presentare refrattarietà a molte classi di farmaci (penicilline, cefalosporine di prima e seconda generazione, tetracicline, macrolidi, cloramfenicolo, sulfamidici) dovuta a mancata penetrazione di queste molecole, evolve molto frequentemente verso una multiresistenza nei confronti di medicamenti inizialmente attivi (11, 62, 73, 92). In *P. aeruginosa* sono attese diverse evoluzioni negative come riportato nello schema seguente:

1. cefalosporinasi cromosomiche inducibili
2. TEM-1 resistenza alle penicilline antipseudomonas
3. PSE 1-4 β-lattamasi plasmidiche
4. Adenil-transferasi (resistenza all'amikacina)

5. Impermeabilità (resistenza a tutti gli aminoglicosidi)
6. mutazione nella porina OprD (imipenem-resistenza)
7. resistenza alla ciprofloxacina
8. Carbapenemasi
9. Efflusso attivo (fluorochinoloni)

I germi isolati, specie in ambiente nosocomiale, mostrano da tempo una preoccupante tendenza all'aumento delle resistenze a tutte le classi di farmaci (4, 20, 44, 51, 65, 86, 91, 133).

Vi sono tuttavia grandi variabilità sull'incidenza di resistenza in funzione della sede di infezione. Ad esempio, *P. aeruginosa* isolato da pazienti con fibrosi cistica dimostra in generale sensibilità alla tobramicina, talvolta al cotrimossazolo, farmaco universalmente considerato inattivo su questo germe, resistenza ai chinoloni mediata da efflusso attivo. Lo stesso patogeno ritrovato in pazienti con altre infezioni croniche manifesta al contrario maggiore sensibilità all'amikacina, resistenza al cotrimossazolo e ai chinoloni mediante alterazione del bersaglio. E' importante rilevare inoltre, per quanto riguarda la fibrosi cistica, la presenza di microrganismi produttori di biofilm, che non permette la penetrazione dei farmaci. Alcuni patogeni sono in grado di internalizzarsi nelle cellule dell'epitelio polmonare, tutte circostanze che non facilitano il contatto del principio attivo con il germe che difficilmente viene eradicato anche se sensibile all'antibiotico (22, 38, 39, 40, 48, 50).

In ambito nosocomiale, ad esempio negli USA, oltre il 75% degli stipiti risulta sensibile alle penicilline antipseudomonas, agli aminoglicosidi (tobramicina e amikacina), a ciprofloxacina, cefrepime, ceftazidime, meropenem e imipenem. Le percentuali di sensibilità ad aztreonam e a levofloxacina variano dal 50 all'80%. Globalmente i tassi di resistenza europei sembrano più bassi rispetto a quelli osservati nel Nord America e in America Latina. Rilevante è il fatto che gli stipiti nosocomiali tendono frequentemente alla multi-resistenza e poiché il numero di ceppi simultaneamente resistenti a β-lattamici (carbapenemici inclusi), aminoglicosidi e fluorochinoloni è in costante aumento la ricerca di nuovi antimicrobici con diversi meccanismi di resistenza è stata intensificata. Per quanto riguarda la situazione epidemiologica italiana due studi recenti (studi SPIN e studio AISAR terapia intensiva) hanno valutato l'incidenza di resistenza ai principali antibiotici in *P. aeruginosa* nosocomiale circolante in Italia. da questi studi emergono percentuali di resistenza oscillanti dal 27 al 43% per piperacillina-tazobactam, aztreonam, ceftazidime, cefepime, tobramicina e ciprofloxacina. Imipenem e amikacina sono le molecole più attive con tassi di refrattarietà oscillanti dal 16 al 22%.

Per le infezioni del paziente affetto da fibrosi cistica sono in sperimentazione nuovi antibiotici peptidici per uso topico e si propone con sempre maggior insistenza l'aggiunta di macrolidi alla usuale terapia. I macrolidi non hanno attività su questi isolati ma sono in grado di interferire con la produ-

zione di caratteri di patogenicità, probabilmente influenzano la produzione di metaboliti che attivano il quorum sensing e potrebbero interferire con il processo infiammatorio (1, 9, 36, 48, 49, 52, 58, 78, 79, 104, 107, 116, 134).

Le più recenti acquisizioni testimoniano la grande efficacia degli antibiotici ad uso topico per aerosol come polimixine, chinoloni ma soprattutto tobramicina che inalata raggiunge dosi di oltre 1200 mg/L in sede di infezione (48, 60). Quest'ultimo farmaco ha dimostrato la sua notevole capacità terapeutica in queste particolari infezioni. La tobramicina appartiene alla classe degli aminoglicosidi, antibiotici caratterizzati da un'attività battericida dipendente dalla concentrazione e cioè il numero dei microrganismi uccisi è direttamente proporzionale alla dose di farmaco presente (19). In questo caso l'uso topico garantisce il massimo dell'effetto letale. La selezione di microrganismi resistenti appare notevolmente ridotta grazie all'elevata concentrazione raggiunta, di gran lunga superiore alla MIC e mai in condizioni subinibenti che facilitano l'insorgenza di ceppi resistenti, come dimostrato anche dai dati di letteratura. Nel caso si sospetti l'insorgenza di questo evento la tobramicina può essere combinata con polimixina o con un β-lattamico con il quale interagisce talora sinergicamente. I livelli quantitativi di resistenza agli aminoglicosidi appaiono per il momento contenuti entro limiti facilmente raggiungibili dalla concentrazione della tobramicina per uso topico (48, 99).

Il trattamento delle infezioni sostenute da *Pseudomonas aeruginosa* è pertanto in continua evoluzione. Nelle infezioni delle vie urinarie e più in generale nelle infezioni comunitarie, è possibile avvalersi con successo della monoterapia con fluorochinoloni o cefalosporine di terza generazione come ceftazidime, ceftriaxone, cefoperazone. Nei quadri sistemici nosocomiali è consigliabile ricorrere a combinazioni di farmaci (aminoglicosidi associati a β-lattamici). Il razionale di tale atteggiamento tiene in considerazione la possibilità che l'azione terapeutica possa sfociare in un effetto battericida sinergico, essenziale per dominare le gravi infezioni prodotte da questo microrganismo. Generalmente si utilizzano tra i β-lattamici le penicilline anti-Pseudomonas (carbenicillina, ticarcillina) o ureidopenicilline (ad esempio, piperacillina) e tra gli aminoglicosidi sono selezionati tobramicina o amikacina. Altri antibiotici attivi su questo germe sono l'aztreonam ed i carbapenemici (imipenem, meropenem).

La grande diffusione delle infezioni da Pseudomonas riscontrate in questi ultimi anni ha stimolato le ricerche intese a ricavare un vaccino da impiegare a scopo profilattico (nei soggetti predisposti ad affezioni respiratorie e negli ustionati) o terapeutico. Purtroppo la presenza di diversi tipi sierologici legati a differenze antigeniche del lipopolisaccaride parietale rende difficile questa ricerca, in quanto un eventuale vaccino dovrebbe contenere i diversi tipi sierologici o almeno i diversi tipi di lipopolisaccaride (61).

Come conseguenza si stanno oggi cercando soluzioni terapeutiche alternative.

Osservazioni finali

Il quadro sull'evoluzione delle resistenze agli antibiotici e sui patogeni emergenti non sarà mai completo, né vi saranno soluzioni ottimali a questi problemi. Quello tra noi e i batteri è un confronto senza fine. I batteri insegnano, hanno le informazioni giuste per affrontare i problemi, le scambiano tra loro e si attivano quando è necessario prevedendo anche ciò che potrà succedere. Le informazioni genetiche per la resistenza agli antibiotici erano già presenti prima dell'era antibiotica. La strada seguita sino ad ora ci ha portato allo sviluppo di farmaci, combattuti strenuamente dai batteri, ma fondamentali per il controllo delle malattie infettive. Continuando su questo percorso dovremmo sviluppare sempre nuovi composti e attenderci che i microrganismi rispondano con la resistenza. La strategia potrebbe cambiare, ad esempio, si potrebbe intervenire sulle armi batteriche piuttosto che direttamente sul microrganismo. Il principio che governa la ricerca di un antibiotico tesa a ritrovare molecole capaci di uccidere un patogeno, potrebbe essere sostituito dallo sviluppo di principi attivi capaci di interferire o bloccare i metaboliti nocivi dei batteri, così come fanno certi vaccini che annullano la tossina prodotta dal germe lasciando in vita il microrganismo stesso. Il vantaggio ecologico sarebbe enorme, ad esempio, nessuna pressione selettiva, nessuna evoluzione verso la resistenza o verso l'insorgenza di nuovi patogeni. I metaboliti batterici non dovrebbero essere contrastati da sostanze che alterano l'ambiente o antagonisti del ciclo vegetativo dei batteri (es: antibiotici) e quindi non vi è, o dovrebbe essere, un'evoluzione che porti ad una reazione in tal senso da parte batteri. Le opportunità ci sono, ad esempio, sviluppare composti che interferiscono con l'attivazione del quorum sensing o la produzione di biofilm o qualsiasi altro metabolica cellulare implicato nei meccanismi di patogenicità e virulenza dei batteri. Le indicazioni in tal senso sono positive (43, 48, 49, 58, 78, 79, 103, 107, 134), l'importante è affrontare il problema con grande professionalità da parte di tutti, e soprattutto non utilizzare composti che abbiamo attività antibatterica simile a quella degli antibiotici altrimenti sarebbe tutto inutile.

Bibliografia

1. Altschuler, E.L. Azithromycin, the multidrug-resistant protein and cystic fibrosis. Lancet, 1998, 351: 1286.

2. Archer G.L., *Staphylococcus aureus*: A well-Armed Pathogen. Clin. Infect. Dis.26: 1179-81, 1998.

3. Ariza J., M. Pujol, J.Cabo, C. Pena, N.Fernandez, J. Linares, J.Ayats, and F. Gudiol. Vancomycin in surgical infections due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with heterogeneous resistance to vancomycin. Lancet 1999, 353:1587-1588.

4. Baltch, A. L., R. P. Smith, and W. Ritz. Comparative antimicrobial activity of FKO37, cefpirome, ceftazidime and cefepime against aminoglycoside-sensitive and aminoglycoside-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and Pseudomonas spp. Chemotherapy 1994, 40:391-398.

5. Bannerman T.L. Staphylococcus, Micrococcus and other catalane positive cocci that grow aerobically. In Murray PR, Baron EJ, Jorgensen J.H., Pfaller MA, Yolken RH, eds. Manual of Clinical Microbiology 2003. 8th ed. P. 384-404 Washington, DC: American Society for Microbiology Press.

6. Bartley J. First case of VRSAidentified in Michigan. Infect Control Hosp Epidemiol. 2002 ;23:480.

7. Bryskier A. Perfecting the ring and extending the antibacterial spectrum: “the multiple generations”. Clin. Microbiol. Infect. 2000, 6 (Suppl. 3): 13-21.

8. Brunet, F., G.Vedel, F.Dreyfus,J.F. Vaxelaire et al. Failure of teicoplanin therapy in two neutropenic patients with staphylococcal septicemia who recovered after administration of vancomycin. Eur J. Clin. Mícrobiol. Infect Dis. 1990, 9: 145-147.

9. Bush, J.A. A. Cystic fibosis: a review of the decade. Monaldi Arch Chest Dis 2001. 56: 240-247.

10. Calfee D.P. Giannetta E.T., Durbin L.J., Germanson T.P., and Farr B.M.

Control of endemic vancomycin-resistant *Enterococcus* among inpatients at the Unversity Hospital. Clin Infect Dis 2003, 37: 326-332.

11. Cambau, E., E. Perani, C. Dib, C. Petinon, J. Trias, and V. Jarlier. Role of mutations in DNA gyrase genes in ciprofloxacin resistance of *Pseudomonas aeruginosa* susceptible or resistant to imipenem. Antimicrob. Agents Chemother. 1995, 39:2248-2252.

12. Centres for Disease Control and Prevention. 1997. *Staphylococcus aureus* with reduced susceptibility to vancomycin -United States. Morbid. Mortal. Weekly Rep. 46:765-766.

13. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*--Pennsylvania, 2002. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2002;51:902 e Erratum in: MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2002 18;51:931.

14. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*--New York, 2004. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2004 23;53:322-3.

15. Chopra I, Hodgson J, Metcalf B and . Poste G. To search for antimicrobial agents effective against bacteria resistant to multiple antibiotics. Antimicrob Agents Chemother 1997 ; 41: 497-503.

16. Clark N M, Patterson, J, Lynch JP. Antimicrobial resistance among gram-negative organisms in the intensive care unit. Curr Op Crit Care 2003, 9: 413-423.

17. Cockerill FR., Smith T.F. Response of the Clinical Microbiology laboratory to emerging (new) and reemerging infectious diseases. J Clin. Microbiol 2004, 42:2359-2365.

18. Courvalin P., Carlier, C. Transposable multiple antibiotic resistance in *Streptococcus pneumoniae*. Mol Gen Genet. 1986, 205:291-297.

19. Craig W.A. Pharmacokinetic/pharmacodynamic parameters: rationale for antimicrobial dosing of mice and men. Clin. Infect Dis. 1998, 26:1-12.

20. Davies J. Inactivation of antibiotics and dissemination of resistance genes. Science 1994, 264: 375-382.

21. Debbia, E. A. Appunti di microbiologia. Ennepilibri ed. p. 56-62, 2002.

22. Donlan, R.M. and J.W. Costerton. Biofilms: Survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. Clin Microbiol Rev. 2002, 15: 167-193.

23. Dowson C.G., Hutchinson A., Branningan J.A., George R.C., Hensman D., Linares J., Tomasz A., Smith J.M., Spratt B.G. Horizontal transfer of penicillin-binding protein genes in penicillin-resistant clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae*. Proc Nat Acad Sci. 1989, 86:8842-8846.

24. Durack,DT: *Pseudomonas aeruginosa*: a ubiquitous pathogen. in Schaechtcr M, Medoff G, Schlessinger D: Mechanisms of microbial disease. eds. William & Wilkins, Baltimore 1989.

25. E. Cercenado M.E. Garcia - M. D. Diaz . Emergence of teicoplanin-resistant coagulase- negative staphylococci. J Clin Microbiol. 1996 34:1765-1768.

26. Eisenstein B.I. *Enterobacteriaceae* p.1964 . In Mandell GL., Bennett J.E. Dolin R (eds) Principles and Practice of Infectious Disease. Churchill Livingstone 1995.

27. Farmer J.J. Enterobacteriaceae: introduction and identification. In Murray PR, Baron EJ, Jorgensen J.H., Pfaller MA, Yolken RH, eds. Manual of Clinical Microbiology. 8th ed. P. 636-653. Washington, DC: American Society for Microbiology Press, 2003.

28. Fauci A. S. Infectious Disease: Considerations for the 21st Century. Clin Infect Dis 2001, 32: 675-85.

29. Felmingham D., Feldman C., Jewicz W., Klugman K., Kohno S., Low D.E., Mendes C., Rodloff A.C. Surveillance of resistance in bacteria causing community-acquired respiratory tract infections. Clin Microbiol Infect. 2002, 8(Suppl.2):12-42.

30. Felmingham D., Gruneberg R.N. The Alexander Project 1996-1997: latest susceptibility data from this international study of bacterial pathogens from community-acquired lower respiratory tract infections. J Antimicrob Chemother 2000, 45:191-203.

31. Felmingham D., Reinert R.R., Hirakata Y., Rodloff R. Increasing prevalence of antimicrobial resistance among isolates of *Streptococcus pneumo* -

niae from the PROTEKT surveillance study, and comparative in vitro activity of the ketolide, telithromycin. J Antimicrob Chemother. 2002, 50(Suppl. S1):25-37.

32. Freer J.H. "Toxins as virulence factors of gram-positive pathogenic bacteria veterinary importance" in Roth J.A. (Ed.) "Virulence mechanisms of bacterial pathogens" Am. Soc. Mìcrobiol, Washington-1993.

33. Garcia-Bustos J., Tomasz A. A biological price of antibiotic resistance: major changes in the peptidoglycan structure of penicillin-resistant pneumococci. Proc Nat Acad Sci. 1990, 87:5414-5419.

34. Gastmeier P. Nosocomial infection surveillance and control policies. Curr Opin. Infect Dis. 2004, 17: 295-301.

35. Gaynes R. Culver D. National Nosocomial Infection Surveillance (NNIS) System Nosocomial methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in the United States, 1975-1996 (abstract 727) In Procedings of the 35th, annual meeting of the Infectious Diseases Society of America (San Francisco) Alexandria VA: IDSA,1997:206.

36. Giamarellou, H. Prescribing guidelines for severe Pseudomonas infections. J Antimicrob Chemoter. 2002, 49 : 229-233.

37. Gordts,B.,H. Van Landuyt, M. leven,P. Vandamme, and H. Goossens. Vancomycin-resistant enterococci colonizing the intestinal tracts of colonized patients J. Clin. Microbiol. 1995, 33: 2842-2846.

38. Govan, J.R., Deretic V. Microbial pathogenesis in cystic fibrosis: mucoid *Pseudomonas aeruginosa* and Burkholderia cepacia. Microbiol Rev 1996, 60:539-74.

39. Gresham, H.D., J.H. Lowrance, T.E. Caver, B.S. Wilson, A.L. Cheng, and F.P. Lindberg. Survival of *Staphylococcus aureus* inside neutrophils contributes to infection. J. Immunol. 2000, 164: 3713-3722.

40. Hall-Stoodley L., Costerton J.W. P. Stoodley. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. Nat. Rev. Microbiol. 2004. 2: 95-108.

41. Hanaki,H., Kuwahara-Aria, K., Boyle Vavra, S., Daum, R.S. Labischinski, H.&Hiramatsu, K. Activated cell-wall synthesis is associated with van-

comycin resistance in methicíllin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strains Mu3 and Mu 50. J Antimicrob Chemother 1998, 42, 199-209.

42. Hansman D., Devitt L., Miles H., Riley I. Pneumococci relatively insensitive to penicillin in Australia and New Guinea. Med J Austral 1974, 2:353-356.

43. Hartman G., Wise R. Quorum sensing: potential means of treating gram-negative infections?. Lancet, 1998, 351 (9106):848-9.

44. Hawkey, P M. The origins and molecular basis of antibiotic resistance. BMJ 1998; 317: 657-60.

45. Hidalgo M., Castaneda E., Arias C.A. Tolerance to vancomycin in a multiresistant, Colombian isolate of *Streptococcus pneumoniae*. J Antimicrob Chemother. 2003, 52: 300-302.

46. Hiramatsu,K., H.Hanaki, T. Ino, K. Yabuta, T. Oguzi, and F.C. Tenover. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. J. Antimicrob. Chemother. 1997. 40:135-136.

47. Hiramatsu,K., N.Aritaka, FI.Hanki, S.Kawasaki, Y.Hosoda, S.Hori, Y.Fukuchi, and Kobayashi Dissemination in Japanese hospitals of strains of *Staphylococcus aureus* heterogeneously resìstant to vancomycin. Lancet. 1997, 350:1670-73.

48. Høiby, N. New antimicrobials in the management of cystic fibrosis. J. Antimicrob. Chemother. 2002, 49: 235-238.

49. Howe R.A. and Spencer R.C. Macrolides for the treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections? Antimicrob. Chemother. 1997. 40: 153-155.

50. Hutchinson, M.L. and J.R.W. Govan. Pathogenicity of microbes associated with cystic fibosis. Microbes Infect. 1999, 1: 1005-1014.

51. Iaconis, J. P., D. H. Pitkin, W. Sheikh, and H. L. Nadier. Comparison of antibacterial activities of meropenem and six other antimicrobials against *Pseudomonas aeruginosa* isolates from North American studics and clinical trials. Clin. Infect. Dis. 1997, 24(Suppl. 2):SI91-S196.

52. Jaffè, A., J. Francis, A. Bush. Long-term azithromycin may improve lung function in children with cystic fibrosis. Lancet 1998, 351: 420-421.

53. Jevons MP. Celbenin-resistant staphylococci. Br. Med J 1961: 1:124-5.

54. Kaper JB, Nataro JP, Mobley HLT. Pathogenic Escherichia coli. Nat Rev Microbiol 2004; 2: 123-140.

55. Karchmer, A.W. Cephalosporins. P.274-291. In G.L. Mandell, J.E. Bennett, R. Dolin (Ed), Principles and Practice of Infectious Diseases. Fifth Edition, 2000.

56. Kiska, D.L. and P.H.Gilligan. Pseudomonas. In Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Yolken RH, eds. Manual of clinical microbiology. 7th ed. P. 517-526 Washington, DC: American Society for Microbiology Press, 2003.

57. Klare I., Konstabel C., Badstübner D., Werner G., Witte W. Occurrence and spread of antibiotic resistances in *Enterococcum faecium*. Int J Food Microbiol 2003, 88: 269-290.

58. Kobayashi H. Airway biofilm disease: its clinical manifestation and therapeutic possibilities of macrolides. 1995. J. Infect. Chemother. 1: 1-5

59. Laible G., Spratt B.G., Hakenbeck R. Interspecies recombinational events during the evolution of alterated PBP 2X genes in penicillin-resistant clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae*. Mol Microbiol 1991, 5:1993-2002.

60. Lamb, H.M., e K.L. Goa. Management of patients with cystic fibrosis. Defining the role of inhaled tobramycin. Dis. Manage. Health Outcomes 1999, 6: 93-108.

61. La Placa M., Streptococchi ed Enterococchi in Pricipi di Microbiologia medica, 8° ed., 2000 p. 234, 284-286, Esculapio Editore.

62. LeClerc, J.E. and T.A.Cebula, Pseudomonas survival strategies in cystic fibrosis. Science 2000, 289: 391-392.

63. Leclercq R., Courvalin P. Mechanism of resistance to macrolides and functionally related antibiotics. In Bryskier A.J., Butzler J.P., Neu H.C., Tulkens P.N. Macrolides Chemistry, Pharmacology and Clinical Uses. (Arnette Blakwell Eds) pp. 125-141; 1993.

64. Leclercq,R,E.Derlot,J.Duval, and P.Courvalin: Plasmid-mediated van-

comycin and teicoplanin resistance in *Enterococcus faecium* N Engl J Med 1988, 319:157-161.

65. Livermore DM. Bacterial resistance: origins, epidemiology, and impact. Clin Infect Dis 2003; 36 (Suppl 1): S11-23.

66. Livermore, D. M., T.G. Winstanley, and K.P. Shannon. Interpretative reading: recognizing the unusual and inferring resistance mechanisms from resistance phenotypes. J. Antimicrob. Chemother. 2001, 48 (Suppl. S1): 87-102.

67. Lowy, F.D. *Staphylococcus aureus* infections. N. Engl. J. Med. 1998. 339: 520-532.

68. Mandell L.A., Bartlett J.G., Dowell S.F., File T.M., Musher D.M., Withney C.; Infectious Diseases Society of America. Update of practice guidelines for the management of community-acquired pneumonia in immunocompetent adults. Clin Infect Dis. 2003, 37:1405-1433.

69. Marchese A., E. A. Debbia, D. Bacca, G.Balistreri, B. Musolino, and G.C. Schito. Multidrug-resistant Gram- positive pathogens. Drugs. 1997, 54 Suppl. 6 : 11-20.

70. Marchese A., Schito G.C., Nicoletti G., Speciale A., Montanari M.P., Varaldo P.E. Sensibilità ai farmaci antimicrobici e distribuzione dei sierotipi capsulari in *Streptococcus pneumoniae* circolante in Italia nel periodo 2000-2002: risultati dello studio S.E.M.P.R.E. Giornale Italiano di Microbiologia Medica Odontoiatrica e Clinica 2003. VII:217-269.

71. Marr J.C., Lyon J.D., Roberson J.R., Lupher M., Davis W.C., Bonach G.A. "Characterization of novel type C staphylococcal enterotoxins: biological and evolutionary implication" Infect. Immun. 1993, 61: 4254-4262.

72. Marshall SA, Wilke WW, Pfaller MA et al. *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci from blood stream infections: frequency of occurrence, antimicrobial susceptibility, and molecular (mecA) characterization of oxacillin resistance in the SCOPE Program. Diagn Microbiol Infect Dis 1998; 30:205-14.

73. Martinez, J.L. and F. Baquero. Mutation frequencies and antibiotic resistance. Antmicrob. Agents Chemother. 2000, 44: 1771-1777.

74. Mc Cullers J.A., English B.K., Novak R. Isolation and characterization of vancomycin-tolerant *Streptococcus pneumoniae* from the cerebrospinal fluid of a patient who developed recrudescent meningitis. J Infect Dis. 2000, 181:369-373.

75. McGowan JE and Tenover FC. Confronting bacterial resistance in healthcare settings: a crucial role for microbiologists. Nat Rev Microbiol 2004, 2: 251-258.

76. Miller DV, Urdaneta, Weltman A. Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* – Pennsylvania 2002. JAMA2002 ; 288 : 2116.

77. Moellering R.C. *Enterococcus species, Streptococcus bovis,* and Leuconostoc Species. Mandell, Bennett, Dolin. Principles and Practice of Infectious Disease 1995, p. 1826-1835. Fourth edition, Churchill Livingstone ed.

78. Molinari G., Guzman C., Pesce A., Schito G.C. Inhibition of *Pseudomonas aeruginosa* virulence factors by sub-inhibitory concentrations of azithromycin and other macrolides antibiotics. J. Antimicrob. Chemother. 1993, 31: 681-688.

79. Molinari G., Paglia P., Schito G.C. Inhibition of motility of *Pseudomonas aeruginosa* and Proteus mirabilis by sub-inhibitory concentrations of azithromycin.. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect Dis. 1992, 11: 469-471.

80. Morens D. M., Folkers G. K., Fauci A. S. The challenge of emerging and re-emerging infectious disease. 2004, Nature vol. 430.

81. Munoz R., Dowson C.G., Daniels M., Coffey T.J., Martin C., Hakenbeck R., Spratt B.G. Genetics of resistance to third-generation cephalosporins in clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae*. Mol Microbiol. 1992, 6:2461-2465.

82. Murphy, O.M., D. Stewart. et al. Susceptibility of staphylococci to teicoplanin and vancomycin - J Antimicrob Chemother 1996: 38: 316-317.

83. Murray B.E. Vancomycin-resistant enteroccal infections. N. Engl. J. Med. 2000, 342:710-719.

84. Musher D.M. Streptococcus. In Mandell, Douglas and Bennett's. Principles and Practice of Infectious Disease. Edited by, Mandell, Bennet, Dolin Churchill Livingstone inc. Cap. 178:1811; 1995.

85. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Twelfth informational supplement: M100-S12 Vol. 22. NCCLS Wayne, PA. 2003.

86. Nicolau D. Clinical and economic implications of antimicrobial resistance for the management of community-acquired respiratory tract infections. J Antimicrob Chemother 2002; 50 (Suppl S1): 61-70.

87. Nikaido H. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. Microbiol Mol Biol Rev 2003, 67: 593-656.

88. Noble.W.C.,Z. Virani, and R. Cree. Co-transfer of vancomycin and other resistance genes from. *Enterococcus faecalis* NCTC 12201 to Staphy1ococcus aureus. FEMS Microbiol. Lett. 1992, 93:195-198.

89. Normark, B.H., Novak R., Örtqvist A., Kãllenius G., Tuomanem E., Normark S. Clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* that exhibit tolerance of vancomycin. Clin Infect Dis. 2001. 32:552-558.

90. Novak, R., Hemiques B., Charpentier E., Normark S., Tuomanen E. Emergence of vancomycin tolerance in *Streptococcus pneumoniae*. Nature. 1999, 399:590-593.

91. O'Brien TF. Emergence, spread and environmental effect of antimicrobial resistance: how use of an antimicrobial anywhere can increase resistance to any antimicrobial anywhere else. Clin Infect Dis. 2002; 34 (Suppl 3): s78-84.

92. Oliver, A., R. Cantòn, P. Campo, F. Vaquero, and J. Blàzquez. High frequency of hypermutable *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis lung infection. Science 2000. 288: 1251-1253.

93. Panlilio A.L. Culver D.H. Gaynes R.P. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in US hospitals. 1975 -1991. Infect. Control Hosp Epidemiol 1992:13:582-6.

94. Paterson, D.L. Recommendation for treatment of severe infections caused by Enterobacteriaceae producing extented-spectrum β-lactamases (ESBLs). Clin. Microbiol. Infect. 20006: 460-463.

95. Paton J.C. Pathogenesis of pneumococcal disease. Curr Op Infect Dis. 1993. 6:636-368.

96. Ploy,M.C.,C Greland, C. Martin, L. de LumIey,and F.Denis. First clinical isolate of vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* in a French hospital. Lancet. 1998, 351:1212.

97. Pollack M. In Principles and Practice of Infectious Diseases, 4th edn (Mandell, G.L., Bennett, J.E. & Dolin, R., Eds), pp. 2310-2335. Churchill Livingstone, New York. 2000.

98. Racaniello V. R. Emerging infectious disease. J Clin Investig 2004, 113.

99. Ramsey, B.W., M.S.Pepe, J.M. Quan et al. Intermittent administration of inhaled tobramycin in patients with cystic fibrosis. N. Engl. J. Med. 1999, 340: 23-30.

100. Remington JS. Strategies for the successful treatment of gram-positive bacterial infections. Clin. Infect. Dis. 2000; 31,Suppl.4: S150-151.

101. Rice L.B. Sahm D., Bonomo R.A. Mechanisms of resistance to antibacterial agents. In Murray PR, Baron EJ, Jorgensen J.H., Pfaller MA, Yolken RH, eds. Manual of Clinical Microbiology. 8th ed. P. 1074-1101 Washington, DC: American Society for Microbiology Press, 2003.

102. Rice L.B. Tn916 family conjugative transposons and dissemination of antimicrobial resistance determinants. Antimicrob Agents Chemoter. 1998, 42: 1871-1877.

103. Rumbaugh, K.P., J.A. Griswold, A.N. Hamood. The role of quorum sensing in the in vivo virulence of *Pseudomonas aeruginosa*. Microb. Infect. 2000, 2: 1721-1731.

104. Saiman, L., Y.Chen, P.SanGabriel, and C. Knirsch. Synergistic activities of macrolide antibiotics against *Pseudomonas aeruginosa*, Burkholderia cepacia, Stenotrophomonas maltophilia and Alcaligenes xylosoxidans isolated from patients with cystic fibrosis. Antimicrob. Agents Chemother. 2002, 46: 1105-1107.

105. Schito G.C., E.A. Debbia and A. Marchese. The evolving threat of antibiotic resistance in Europe: new data from the Alexander Project. J. Antimicrob. Chemother. 2000, 46 Topic T1: 3-9.

106. Shah, A.A.. Hasan F., Ahmed S., Hameed A. Characteristics, epidemiology and clinical importance of emerging strains of gram-negative bacil-

li producing extended-spectrum β-lactamases. Res Microbiol 2004, 15: 409-421.

107. Shryock, T. R., J.E. Mortensen and M. Baumholtz,. The effects of macrolides on the expression of bacterial virulence mechanisms. J. Antimicrob. Chemother. 1998, 41:505-512.

108. Sieradzki K, Villari P., Tomasz A: Decreased susceptibilities to teicoplanin and vancomycin among coagulase-negative methicillin -resistant clinical isolates of staphylococci - Antimicrob Agents Chemother 1998, 42: 100-107.

109. Sieradzki K., Tomasz A. Inhibition of cell wall turnover and autolysis by vancomycin in a highly vancomycin-resistant mutant of *Staphylococcus aureus*. J Bacteriol 1997, 179: 2557-2566.

110. Sieradzki,K.,R.B. Roberts, S.W. Harber and A. Tomasz. The development of vancomycin resistance in a patient with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection. N. Engl J.Med. 1999, 340: 517-523.

111. Spanu T., Luzzaro F., Perilli M., Amicosante G., Toniolo A., Fadda G., Italian ESBL Study group. Occurrence of extended-spectrum beta-lactamases in member of family of Enterobacteriaceae in Italy: implications for resistance to beta-lactams and other antimicrobial drugs. Antimicrob. Agents Chemother. 2002, 46: 196-202.

112. Spencer R.C. A. Bauernfeind,J. Garcia-Rodriguez,V. Jarlier, M.Pfaller, J. Turnidge, and A. Voss. Surveillance of the current resistance of nosocomial pathogens to antimicrobials. Clin Microbiol Infect. 1997. 3 (suppl 1): S 21-35.

113. Spratt B.G. Resistance to antibiotic mediated by target alterations. Science 1994, 264: 388-393.

114. Strausbaugh L.J. and Jernigan DB. Emerging Infections. In Gorbach S.L., Bartlett J.G., Blacklow N.R. (eds) Infectious Diseases 2004. 3rd Ed. p.107-116. Lippincott Williams and Wilkins. New York.

115. Sutcliffe J., Grebe T., Tait-Kamradt A., Wondtrack L. Detection of erythromycin-resistant determinants by PCR. Antimicrob Agents Chemother 1996, 40: 2562-2566.

116. Tateda K., Comte R., Pechere J.C., Kohler T, Yamaguchi K., VanDelden C. Azithromycin inhibits quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob. Agents Chemother. 2001, 45: 1930-1933.

117. Teixera L.M. and Facklam R.R. Enterococcus. In Murray PR, Baron EJ, Jorgensen J.H., Pfaller MA, Yolken RH, eds. Manual of Clinical Microbiology. 8th ed. P. 422-433. Washington, DC: American Society for Microbiology Press, 2003.

118. Tenover F.C. and Hughes J.M. The challenges of emerging infectious diseases. Development and spread of multiply-resistant bacterial pathogens. JAMA 1996, 275: 300-304.

119. Tenover F.C. Development and spread of bacterial resistance to antimicrobial agents: an overview. Clin Infect Dis 2001, 33 (Suppl 3): S108-S115.

120. Tenover FC, Weigel LM, Appelbaum PC, McDougal LK, Chaitram J, McAllister S, Clark N, Killgore G, O'Hara CM, Jevitt L, Patel JB, Bozdogan B. Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* isolate from a patient in Pennsylvania. Antimicrob Agents Chemother. 2004;48:275-80.

121. Tomasz A, Lancaster H, de Jonge BLM, Matthews PR. Molecular aspects of methicillin-resistance in *S.aureus*-J Antimicrob Chemother 1994; 33:7-24.

122. Tomasz A. Antibiotic resistance in *Streptococcus pneumoniae*. Clin Infect Dis. 1997, 24 (Suppl. 1):S85-88.

123. Tomasz A. Chapter 22, in: Microbial Determinants of Virulence and Host Response (Proceedings of a Workshop, Feb. 18-20. Gaisville, FI). Ayoub E.M., Cassel G.H., Branche W.C., Henry J.T., editors. American Society for Microbiology, Washington D.C. pp. 345-359; 1990.

124. Tripodi M. et al. Prevalence of antibiotic resistance among clinical isolates of methicillin-resistant staphylococci. Eur j Clin Microbiol Infect Dis, 1994, 13, 148-52.

125. Uttley, A.H., CH. Collins, J. Naidoo, and R.C. George. Vancomycin-resistant enterococci. Lancet 1988. i:57-58.

126. Vandenesch F, Naimi T, Enright MC, Lina G, Nimmo GR, Heffernan H, Liassine N, Bes M, Greenland T, Reverdy ME, Etienne J. Community-

acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying Panton-Valentine leukocidin genes: worldwide emergence. Emerg Infect Dis. 2003 ;9:978-84.

127. Waldvogel Fa : *Staphylococcus aureus*, including toxic shock syndrome. In Mandell GL et al.: Principles and Practice of Infectious Disease. Churchill Livingstone 1995.

128. Walsh C. Antibiotics: actions, origins, resistance 2003, p.89-156. American Society for Microbiology. Press, Washington.

129. Waterfield N.R., Wren B.W. Hiffrench-Constant R. Invertebrates as a source of emerging human pathogens. Nat Rev Microbiol 2004, 2: 833-841.

130. Widdowson C.A., Klugman K.P., Hanslo D. Identification of the tetracycline resistance gene tet(O) in *Streptococcus pneumoniae*. Antimicrob. Agents Chemother. 1996, 40:2891-2893.

131. Willey, B.M. Jones R.N., McGeer A., Witte W. et al. Pratical approach to the identification of clinically relevant Enterococcus species. Diagn Microbiol Infect Dis 1999, 34: 165-171.

132. Wise R., The relentless rise of resistence?, J. Antimicrob Chemother 2004, 54, 306-310.

133. Wood MJ and Moellering RC. Microbial resistance: bacteria and more. Clin Infect Dis 2003;36 (Suppl 1): S2-3.

134. Yanagihara, K., K.Tomono, T.Sawai, M.Kuroki et al. Combination therapy for chronic *Pseudomonas aeruginosa* respiratory infection associated with biofilm formation. J. Antimicrob. Chemother. 2000, 46: 69:-72.

135. Zeller V., Janoir C. Kitzis M., Gutmann L., Moreau N.J. Active efflux as a mechanism of resistance to ciprofloxacin in *Streptococcus pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother. 1977, 41:1973-1978.

Indice

Editoriale . . . . . » 3
Patogeni emergenti . . . . . » 5
Antibiotico-resistenza . . . . . » 8
Meccanismi di resistenza genetici . . . . . » 14
Meccanismi di resistenza biochimici . . . . . » 14
Streptococcus pneumoniae . . . . . » 17
Generalità . . . . . » 17
Meccanismi di resistenza agli antibiotici . . . . . » 19
Evoluzione ed epidemiologia delle resistenze . . . . . » 21
Enterococchi . . . . . » 22
Generalità . . . . . » 22
Resistenza agli antibiotici . . . . . » 23
Staphylococcus aureus . . . . . » 27
Generalità . . . . . » 27
Evoluzione della resistenza antibiotica . . . . . » 29
Resistenza al glicopeptidi . . . . . » 30
Enterobacteriaceae . . . . . » 31
Generalità . . . . . » 31
Patogenicità e manifestazioni cliniche . . . . . » 33
Resistenza agli antibiotici . . . . . » 34
Pseudomonas aeruginosa . . . . . » 35
Morfologia e generalità . . . . . » 35
Resistenza agli antibiotici . . . . . » 37
Osservazioni finali . . . . . » 40
Bibliografia . . . . . » 41
Indice . . . . . » 54

Caleidoscopio
Italiano

...il futuro ha il cuore antico MEDICAL SYSTEMS SpA

1. **Rassu S.:** ***Principi generali di endocrinologia.*** **Gennaio '83**
2. **Rassu S.:** ***L'ipotalamo endocrino.*** **Giugno '83**
3. **Rassu S.:** ***L'ipofisi.*** **Dicembre '83**
4. **Alagna., Masala A.:** ***La prolattina.*** **Aprile '84**
5. **Rassu S.:** ***Il pancreas endocrino.*** **Giugno '84**
6. **Fiorini I., Nardini A.:** ***Citomegalovirus, Herpes virus, Rubella virus (in gravidanza).*** **Luglio '84.**
7. **Rassu S.:** ***L'obesita'.*** **Settembre '84**
8. **Franceschetti F., Ferraretti A.P, Bolelli G.F., Bulletti C.:*****Aspetti morfofunzionali dell'ovaio.*** **Novembre '84.**
9. **Kubasik N.P.:** ***Il dosaggio radioimmunologico (1)*** **. Dicembre '84.**
10. **Kubasik N.P.:** ***Il dosaggio radioimmunologico (2) parte prima.*** **Gennaio'85.**
11. **Kubasik N.P.:** ***Il dosaggio radioimmunologico (2) parte seconda.*** **Febbraio '85.**
12. **Kubasik N.P.:** ***Il dosaggio radioimmunologico (3) parte prima.*** **Aprile '85.**
13. **Nacamulli D, Girelli M.E, Zanatta G.P, Busnardo B.:** ***Il TSH.*** **Giugno '85.**
14. **Facchinetti F. e Petraglia F.:** ***La β-endorfina plasmatica e liquorale.*** **Agosto '85.**
15. **Baccini C.:** ***Le droghe d'abuso (1).*** **Ottobre '85.**
16. **Kubasik N.P.:** ***Il dosaggio radioimmunologico (3) parte seconda.*** **Dicembre '85.**
17. **Nuti R.:** ***Fisiologia della vitamina D: Trattamento dell'osteoporosi post-menopausale.*** **Febbraio '86**
18. **Cavallaro E.:** ***Ipnosi: una introduzione psicofisiologica.*** **Marzo '86.**
19. **Fanetti G.:** ***AIDS: trasfusione di sangue emoderivati ed emocomponenti.*** **Maggio '86.**
20. **Fiorini I., Nardini A.:** ***Toxoplasmosi, immunologia e clinica.*** **Luglio '86.**
21. **Limone P.:** ***Il feocromocitoma.*** **Settembre '86.**
22. **Bulletti C., Filicori M., Bolelli G.F., Flamigni C.:** ***Il Testicolo. Aspetti morfo-funzionali e clinici*****. Novembre '86.**
23. **Bolcato A.:** ***Allergia.*** **Gennaio '87.**
24. **Kubasik N.P.:** ***Il dosaggio enzimoimmunologico e fluoroimmunologico.*** **Febbraio '87.**
25. **Carani C.:** ***Patologie sessuali endocrino-metaboliche.*** **Marzo '87.**
26. **Sanna M., Carcassi R., Rassu S.:** ***Le banche dati in medicina.*** **Maggio '87.**
27. **Bulletti C., Filicori M., Bolelli G.F., Jasonni V.M., Flamigni C.:** ***L'amenorrea.*** **Giugno '87.**
28. **Zilli A., Pagni E., Piazza M.:** ***Il paziente terminale.*** **Luglio '87.**
29. **Pisani E., Montanari E., Patelli E., Trinchieri A., Mandressi A.:** ***Patologie prostatiche.*** **Settembre '87.**
30. **Cingolani M.:** ***Manuale di ematologia e citologia ematologica.*** **Novembre '87.**
31. **Kubasik N.P.:** ***Ibridomi ed anticorpi monoclonali.*** **Gennaio '88.**

32. Andreoli C., Costa A., Di Maggio C.: ***Diagnostica del carcinoma mammario.*** **Febbraio '88.**
33. Jannini E.A., Moretti C., Fabbri A., Gnessi L., Isidori A.: ***Neuroendocrinologia dello stress.*** **Marzo '88.**
34. Guastella G., Cefalù E., Carmina M.: ***La fecondazione in vitro.*** **Maggio '88.**
35. Runello F., Garofalo M.R., Sicurella C., Filetti S., Vigneri R.: ***Il gozzo nodulare.*** **Giugno '88.**
36. Baccini C.: ***Le droghe d'abuso (2).*** **Luglio '88.**
37. Piantino P., Pecchio F.: ***Markers tumorali in gastroenterologia.*** **Novembre '88.**
38. Biddau P.F., Fiori G.M., Murgia G.: ***Le leucemie acute infantili.*** **Gennaio '89.**
39. Sommariva D., Branchi A.: ***Le dislipidemie.*** **Febbraio '89.**
40. Butturini U., Butturini A.: ***Aspetti medici delle radiazioni.*** **Marzo '89.**
41. Cafiero F., Gipponi M., Paganuzzi M.: ***Diagnostica delle neoplasie colo-rettali.*** **Aprile '89.**
42. Palleschi G.: ***Biosensori in Medicina.*** **Maggio '89.**
43. Franciotta D.M., Melzi D'Eril G.V. e Martino G.V.: ***HTLV-I.*** **Giugno '89.**
44. Fanetti G.: ***Emostasi: fisiopatologia e diagnostica.*** **Luglio '89.**
45. Contu L., Arras M..: ***Le popolazioni e le sottopopolazioni linfocitarie.*** **Settembre '89.**
46. Santini G.F., De Paoli P., Basaglia G.: ***Immunologia dell'occhio.*** **Ottobre '89.**
47. Gargani G., Signorini L.F., Mandler F., Genchi C., Rigoli E., Faggi E.: ***Infezioni opportu - nistiche in corso di AIDS.*** **Gennaio '90.**
48. Banfi G., Casari E., Murone M., Bonini P.: ***La coriogonadotropina umana.*** **Febbraio '90.**
49. Pozzilli P., Buzzetti R., Procaccini E., Signore E.: ***L'immunologia del diabete mellito.*** **Marzo '90.**
50. Cappi F.: ***La trasfusione di sangue: terapia a rischio*****. Aprile '90.**
51. Tortoli E., Simonetti M.T.: ***I micobatteri*****. Maggio '90.**
52. Montecucco C.M., Caporali R., De Gennaro F.: ***Anticorpi antinucleo*****. Giugno '90.**
53. Manni C., Magalini S.I. e Proietti R.: ***Le macchine in terapia intensiva.*** **Luglio '90.**
54. Goracci E., Goracci G.: ***Gli allergo-acari.*** **Agosto '90.**
55. Rizzetto M.: ***L'epatite non A non B (tipo C).*** **Settembre '90.**
56. Filice G., Orsolini P., Soldini L., Razzini E. e Gulminetti R.: ***Infezione da HIV-1: patoge - nesi ed allestimento di modelli animali*****. Ottobre '90.**
57. La Vecchia C. ***Epidemiologia e prevenzione del cancro (I).*** **Gennaio '91.**
58. La Vecchia C. ***Epidemiologia e prevenzione del cancro (II).*** **Febbraio '91.**
59. Santini G.F., De Paoli P., Mucignat G., e Basaglia G., Gennari D.: ***Le molecole dell'adesi - vità nelle cellule immunocompetenti.*** **Marzo '91.**
60. Bedarida G., Lizioli A.: ***La neopterina nella pratica clinica.*** **Aprile '91.**
61. Romano L.: ***Valutazione dei kit immunochimici.*** **Maggio '91.**
62. Dondero F. e Lenzi A.: ***L'infertilità immunologica*****. Giugno '91.**
63. Bologna M. Biordi L. Martinotti S.: ***Gli Oncogèni*****. Luglio '91.**
64. Filice G., Orsolini P., Soldini L., Gulminetti R., Razzini E., Zambelli A. e Scevola D.: ***In - fezione-malattia da HIV in Africa.*** **Agosto '91.**
65. Signore A., Chianelli M., Fiore V., Pozzilli P., Andreani D.: ***L'immunoscintigrafia nella diagnosi delle endocrinopatie autoimmuni.*** **Settembre '91.**
66. Gentilomi G.A.: ***Sonde genetiche in microbiologia*****. Ottobre '91.**
67. Santini G.F., Fornasiero S., Mucignat G., Besaglia G., Tarabini-Castellani G. L., Pascoli L.: ***Le sonde di DNAe la virulenza batterica.*** **Gennaio '92.**
68. Zilli A., Biondi T.: ***Il piede diabetico.*** **Febbraio '92.**
69. Rizzetto M.: ***L'epatite Delta.*** **Marzo '92.**

70. Bracco G., Dotti G., Pagliardini S., Fiorucci G.C.: *Gli screening neonatali.* Aprile '92.
71. Tavani A., La Vecchia C.: *Epidemiologia delle patologie cardio e cerebrovascolari.* Luglio '92.
72. Cordido F., Peñalva A., De la Cruz L. F., Casanueva F. F., Dieguez C.: *L'ormone della crescita.* Agosto '92.
73. Contu L., Arras M.: *Molecole di membrana e funzione immunologica (I)*. Settembre '92.
74. Ferrara S.:*Manuale di laboratorio I*. Ottobre '92.
75. Gori S.: *Diagnosi di laboratorio dei patogeni opportunisti*. Novembre '92.
76. Ferrara S.: *Manuale di laboratorio II*. Gennaio '93.
77. Pinna G., Veglio F., Melchio R.: *Ipertensione Arteriosa.* Febbraio '93.
78. Alberti M., Fiori G.M., Biddau P.: *I linfomi non Hodgkin.* Marzo '93.
79. Arras M., Contu L.: *Molecole di membrana e funzione immunologica (II)*. Aprile '93.
80. Amin R.M., Wells K.H., Poiesz B.J.: *Terapia antiretrovirale*. Maggio '93.
81. Rizzetto M.: *L'epatite C*. Settembre '93.
82. Andreoni S.: *Diagnostica di laboratorio delle infezioni da lieviti*. Ottobre '93.
83.Tarolo G.L., Bestetti A., Maioli C., Giovanella L.C., Castellani M.: *Diagnostica con radionuclidi del Morbo di Graves-Basedow.* Novembre '93.
84. Pinzani P., Messeri G., Pazzagli M.: *Chemiluminescenza.* Dicembre '93.
85. Hernandez L.R., Osorio A.V.: *Applicazioni degli esami immunologici*. Gennaio 94.
86. Arras M., Contu L.: *Molecole di Membrana e funzione immunologica. Parte terza: I lnfociti B*. Febbraio '94.
87. Rossetti R.: *Gli streptoccocchi beta emolitici di gruppo B (SGB).* Marzo '94.
88. Rosa F., Lanfranco E., Balleari E., Massa G., Ghio R.: *Marcatori biochimici del rimodellamento osseo*. Aprile '94.
89. Fanetti G.: *Il sistema ABO: dalla sierologia alla genetica molecolare.* Settembre '94.
90. Buzzetti R., Cavallo M.G., Giovannini C.: *Citochine ed ormoni: Interazioni tra sistema endocrino e sistema immunitario*. Ottobre '94.
91. Negrini R., Ghielmi S., Savio A., Vaira D., Miglioli M.: *Helicobacter pylori.* Novembre '94.
92. Parazzini F.: *L'epidemiologia della patologia ostetrica*. Febbraio '95.
93. Proietti A., Lanzafame P.: *Il virus di Epstein-Barr*. Marzo '95.
94. Mazzarella G., Calabrese C., Mezzogiorno A., Peluso G.F., Micheli P, Romano L.: *Immunoflogosi nell'asma bronchiale*. Maggio '95.
95. Manduchi I.: *Steroidi*. Giugno '95.
96. Magalini S.I., Macaluso S., Sandroni C., Addario C.: *Sindromi tossiche sostenute da principi di origine vegetale*. Luglio '95.
97. Marin M.G., Bresciani S., Mazza C., Albertini A., Cariani E.: *Le biotecnologie nella diagnosi delle infezioni da retrovirus umani*. Ottobre '95.
98.La Vecchia C., D'Avanzo B., Parazzini F., Valsecchi M.G.: *Metodologia epidemiologica e sperimentazione clinica*. Dicembre '95.
99.Zilli A., Biondi T., Conte M.: *Diabete mellito e disfunzioni conoscitive*. Gennaio '96.
100.Zazzeroni F., Muzi P., Bologna M.: *Il gene oncosoppressore p53: un guardiano del genoma*. Marzo '96.
101.Cogato I. Montanari E.: *La Sclerosi Multipla*. Aprile '96.
102.Carosi G., Li Vigni R., Bergamasco A., Caligaris S., Casari S., Matteelli A., Tebaldi A.: *Malattie a trasmissione sessuale.* Maggio '96.
103.Fiori G. M., Alberti M., Murtas M. G., Casula L., Biddau P.: *Il linfoma di Hodgkin*. Giugno '96.

104.Marcante R., Dalla Via L.: ***Il virus respiratorio sinciziale*****. Luglio '96.**
105.Giovanella L., Ceriani L., Roncari G.: ***Immunodosaggio dell'antigene polipeptidico tis - sutale specifico (TPS) in oncologia clinica: metodologie applicative.*** **Ottobre '96.**
106.Aiello V., Palazzi P., Calzolari E.: ***Tecniche per la visualizzazione degli scambi cromatici (SCE): significato biologico e sperimentale.*** **Novembre '96.**
107.Morganti R.: ***Diagnostica molecolare rapida delle infezioni virali.*** **Dicembre '96.**
108.Andreoni S.: ***Patogenicità di Candida albicans e di altri lieviti.*** **Gennaio '97.**
109.Salemi A., Zoni R.: ***Il controllo di gestione nel laboratorio di analisi.*** **Febbraio '97.**
110.Meisner M.: ***Procalcitonina.*** **Marzo '97.**
111.Carosi A., Li Vigni R., Bergamasco A.: ***Malattie a trasmissione sessuale (2)*****. Aprile '97.**
112.Palleschi G. Moscone D., Compagnone D.: ***Biosensori elettrochimici in Biomedicina.*** **Maggio '97.**
113.Valtriani C., Hurle C.: ***Citofluorimetria a flusso*****. Giugno '97.**
114.Ruggenini Moiraghi A., Gerbi V., Ceccanti M., Barcucci P.: ***Alcol e problemi correlati.*** **Settembre '97.**
115.Piccinelli M.: ***Depressione Maggiore Unipolare*****. Ottobre '97.**
116.Pepe M., Di Gregorio A.: ***Le Tiroiditi.*** **Novembre '97.**
117.Cairo G.: ***La Ferritina.*** **Dicembre '97.**
118.Bartoli E.: ***Le glomerulonefriti acute*****. Gennaio '98.**
119.Bufi C., Tracanna M.: ***Computerizzazione della gara di Laboratorio.*** **Febbraio '98.**
120.National Academy of Clinical Biochemistry: ***Il supporto del laboratorio per la diagnosi ed il monitoraggio delle malattie della tiroide.*** **Marzo '98.**
121.Fava G., Rafanelli C., Savron G.: ***L'ansia.*** **Aprile '98.**
122.Cinco M.: ***La Borreliosi di Lyme*****. Maggio '98.**
123.Giudice G.C.: ***Agopuntura Cinese.*** **Giugno '98.**
124.Baccini C.: ***Allucinogeni e nuove droghe (1)*****. Luglio '98.**
125.Rossi R.E., Monasterolo G.: ***Basofili.*** **Settembre '98.**
126. Arcari R., Grosso N., Lezo A., Boscolo D., Cavallo Perin P.: ***Eziopatogenesi del diabete mellito di tipo 1*****. Novembre '98.**
127.Baccini C.: ***Allucinogeni e nuove droghe (1I)*****. Dicembre '98.**
128.Muzi P., Bologna M.: ***Tecniche di immunoistochimica*****. Gennaio '99.**
129.Morganti R., Pistello M., Vatteroni M.L.: ***Monitoraggio dell'efficacia dei farmaci antivi - rali*****. Febbraio '99.**
130.Castello G., Silvestri I.: ***Il linfocita quale dosimetro biologico*****. Marzo '99.**
131.AielloV., Caselli M., Chiamenti C.M.: ***Tumorigenesi gastrica Helicobacter pylori - corre - lata.*** **Aprile '99.**
132.Messina B., Tirri G., Fraioli A., Grassi M., De Bernardi Di Valserra M.: ***Medicina Termale e Malattie Reumatiche.*** **Maggio '99.**
133.Rossi R.E., Monasterolo G.: ***Eosinofili.*** **Giugno '99.**
134.Fusco A., Somma M.C.: ***NSE (Enolasi Neurono-Specifica)*****. Luglio '99.**
135.Chieffi O., Bonfirraro G., Fimiani R.: ***La menopausa.*** **Settembre '99.**
136.Giglio G., Aprea E., Romano A.: ***Il Sistema Qualità nel Laboratorio di Analisi.*** **Ottobre '99.**
137.Crotti D., Luzzi I., Piersimoni C.: ***Infezioni intestinali da Campylobacter e microrganismi correlati.*** **Novembre '99.**
138.Giovanella L.: ***Tumori Neuroendocrini: Diagnosi e fisiopatologia clinica.*** **Dicembre '99.**

139.Paladino M., Cerizza Tosoni T.: ***Umanizzazione dei Servizi Sanitari: il Case Management*****. Gennaio 2000.**
140.La Vecchia C.: ***Come evitare la malattia*****. Febbraio 2000.**
141.Rossi R.E., Monasterolo G.: ***Cellule dendritiche*****. Marzo 2000.**
142.Dammacco F.: ***Il trattamento integrato del Diabete tipo 1 nel bambino e adolescente (I).*** **Aprile 2000.**
143.Dammacco F.: ***Il trattamento integrato del Diabete tipo 1 nel bambino e adolescente (II).*** **Maggio 2000.**
144.Croce E., Olmi S.: ***Videolaparoscopia.*** **Giugno 2000.**
145.Martelli M., Ferraguti M.: ***AllergoGest.*** **Settembre 2000.**
146.Giannini G., De Luigi M.C., Bo A., Valbonesi M.: ***TTP e sindromi correlate: nuovi orizzonti diagnostici e terapeutici.*** **Gennaio 2001.**
147.Rassu S., Manca M.G., Pintus S., Cigni A.: ***L'umanizzazione dei servizi sanitari.*** **Febbraio 2001.**
148. Giovanella L.: ***I tumori della tiroide*****. Marzo 2001.**
149.Dessì-Fulgheri P., Rappelli A.: ***L'ipertensione arteriosa*****. Aprile 2001.**
150. The National Academy of Clinical Biochemistry: ***Linee guida di laboratorio per lo screening, la diagnosi e il monitoraggio del danno epatico*****. Settembre 2001.**
151.Dominici R.: ***Riflessioni su Scienza ed Etica*****. Ottobre 2001.**
152.Lenziardi M., Fiorini I.: ***Linee guida per le malattie della tiroide*****. Novembre 2001.**
153.Fazii P.: ***Dermatofiti e dermatofitosi*****. Gennaio 2002.**
154.Suriani R., Zanella D., Orso Giacone G., Ceretta M., Caruso M.: ***Le malattie infiammatorie intestinali (IBD) Eziopatogenesi e Diagnostica Sierologica.*** **Febbraio 2002.**
155. Trombetta C.: ***Il Varicocele.*** **Marzo 2002.**
156.Bologna M., Colorizio V., Meccia A., Paponetti B.: ***Ambiente e polmone*****. Aprile 2002.**
157. Correale M., Paradiso A., Quaranta M.: I ***Markers tumorali.*** **Maggio 2002.**
158. Loviselli A., Mariotti S.: ***La Sindrome da bassa T3*****. Giugno 2002.**
159. Suriani R., Mazzucco D., Venturini I., Mazzarello G., Zanella D., Orso Giacone G.: ***Helicobacter Pylori: stato dell'arte.*** **Ottobre 2002.**
160. Canini S.: Gli screening prenatali: marcatori biochimici, screening nel 1° e 2° trimestre di gravidanza e test integrato. Novembre 2002.
161. Atzeni M.M., Masala A.: ***La β-talassemia omozigote*****. Dicembre 2002.**
162. Di Serio F.: ***Sindromi coronariche acute*****. Gennaio 2003.**
163. Muzi P., Bologna M.: ***Il rischio di contaminazione biologica nel laboratorio biosanitario.*** **Febbraio 2003.**
164. Magni P., Ruscica M., Verna R., Corsi M.M.: ***Obesità: fisiopatologia e nuove prospettive diagnostiche*****. Marzo 2003.**
165. Magrì G.: ***Aspetti biochimici e legali nell'abuso alcolico*****. Aprile 2003.**
166. Rapporto dello Hastings Center: ***Gli scopi della medicina: nuove priorità.*** **Maggio 2003.**
167. Beelke M., Canovaro P., Ferrillo F.: ***Il sonno e le sue alterazioni*****. Giugno 2003.**
168. Macchia V., Mariano A.: ***Marcatori tumorali nel cancro della vescica*****. Luglio 2003.**
169. Miragliotta G., Barra Parisi G., De Sanctis A., Vinci E.: ***La Turbercolosi Polmonare: Diagnostica di Laboratorio*****. Agosto 2003.**
170. Aebischer T.: ***Il Comitato Internazionale della Croce Rossa ed il Diritto Internazionale Umanitario*****. Settembre 2003.**
171. Martino R., Frallicciardi A., Tortoriello R.: ***Il manuale della sicurezza*****. Ottobre 2003.**

172. Canigiani S. e Volpini M.: *Infarto acuto del miocardio: biochimica del danno cellulare e marcatori di lesione.* Novembre 2003.
173. La Brocca A. Orso Giacone G. Zanella D. Ceretta M.: *Laboratorio e clinica delle principali affezioni tiroidee.* Dicembre 2003.
174. Savron G.: *Le Fobie*. Gennaio 2004.
175. Paganetto G.: *Evoluzione storica del rischio di patologie umane per contaminazione chimica ambientale*. Febbraio 2004.
176. Giovanella L.: *Iperparatiroidismo e tumori paratiroidei*. Marzo 2004.
177. Severino G., Del Zompo M.: *Farmacogenomica: realtà e prospettive per una "Medicina Personalizzata".* Aprile 2004.
178 Arigliano P.L.: *Strategie di prevenzione dell'allergia al lattice nelle strutture sanitarie.* Maggio 2004.
179. Bruni A.: *Malattia di Alzheimer e Demenza Frototemporale.* Giugno 2004.
180. Perdelli F., Mazzarello G., Bassi A.M., Perfumo M., Dallera M.: *Eziopatogenesi e diagnostica allergologica.* Luglio 2004.
181. Franzoni E., Gualandi P. Pellegrini G.: *I disturbi del comportamento alimentare.* Agosto 2004.
182. Grandi G., Peyron F.: *La toxoplasmosi congenita*. Settembre 2004.
183. Rocca D.L., Repetto B., Marchese A., Debbia E.A: *Patogeni emergenti e resistenze batteriche*. Ottobre 2004.

I volumi disponibili su Internet nel sito www.medicalsystems.it sono riportati in nero mentre in grigio quelli non ancora disponibili su Internet.

Inoltre sono disponibili un limitato numero di copie di alcuni numeri del Caleidoscopio che ormai sono "storiche". Qualora mancassero per completare la collana potete farne richiesta al collaboratore Medical Systems della Vostra zona. I numeri sono: Caleidoscopio 14, 18, 33, 40, 48, 49, 50, 54, 65, 68, 84, 100, 106, 118, 121, 126, 129, 130, 131, 132, 133, 134. I volumi verranno distribuiti sino ad esaurimento e non verranno ristampati se non in nuove edizioni.

Caleidoscopio
Rivista mensile di Medicina
anno 22, numero 183

Direttore Responsabile
Sergio Rassu
Tel. mobile 338 2202502
E-mail: sergiorassu@libero.it

Responsabile Ufficio Acquisti
Giusi Cunietti

Servizio Abbonamenti
Maria Grazia Papalia
Flavio Damarciasi

Progettazione e Realizzazione
Restless Architect
of Human Possibilities s.a.s.

Consulenti di Redazione
Giancarlo Mazzocchi ed
Angelo Maggio

Segretaria di Direzione
Maria Speranza Giola
Giovanna Nieddu

EDITORE

...il futuro ha il cuore antico MEDICAL SYSTEMS SpA

Via Rio Torbido, 40
16165 Genova (Italy)
Tel. 010 83401 Numero Verde 800 801005 (senza prefisso);
Telefax 010/8340310- 809070.
Internet URL: http://www.medicalsystems.it
La Medical Systems pubblica anche le seguenti riviste: Caleidoscopio Illustrato, Caleidoscopio Letterario, Giornale della Associazione per l'Automazione del Laboratorio, Guida Pratica Immulite®, Journal of Clinical Ligand Assay, Pandora, Tribuna Biologica e Medica.

Stampa
LA STAMPA - Industrie Grafiche S.p.A.
Salita Pino Sottano, 3/C - Genova
Tel. 010 8360167 - Fax 010 8367321

Registrazione Tribunale di Genova n. 34 del 31/7/1996
Iscrizione al Registro Nazionale della Stampa n° 2661 del 2 Settembre 1989
Iscrizione al Registro degli Operatori di Comunicazione (ROC) n° 1188

Finito di stampare: Ottobre 2004
Sped. in Abb. Post. 45%

Pubblicazione protetta a norma di legge dall'Ufficio proprietà letteraria, artistica e scientifica della Presidenza del Consiglio dei Ministri, dedicata all'aggiornamento professionale continuo e riservata ai medici.

Caleidoscopio viene anche letto e rilanciato da:
"L'ECO DELLA STAMPA"
Via Compagnoni, 28 - Milano