

## **PRIME VALUTAZIONI SULL'IMPIEGO DEL CLORURO DI DODECIL-DI(BETA-OSSIETIL)-BENZILAMMONIO QUALE DECONTAMINANTE DI ROUTINE PER L'ISOLAMENTO DEI MICOBATTERI**

ENRICO TORTOLI

*Laboratorio di Batteriologia e Virologia, U.S.L. 10/D di Firenze, via della Quiete 2, 50141 Firenze*

### SUMMARY

PRELIMINARY RESULTS OF ROUTINE USE OF BACTOFEN IN DECONTAMINATION OF SPECIMENS FOR CULTURE OF MYCOBACTERIA.

The percentages of positive cultures of mycobacteria obtained from sputum, bronchial-aspirate and urine treated with 0.2% Bactofen and with 0.5% Desogen were compared.

Respiratory materials gave significantly higher values of these percentages when treated with Bactofen.

Urine showed opposite results but these were not statistically significant.

Isolates of MOTT too were more frequent in specimens decontaminated with Bactofen.

Contamination rate showed no modifications.

### INTRODUZIONE

Nell'intento di mettere a punto un sistema pratico ed efficace per la decontaminazione dei materiali biologici prima dell'esecuzione dell'esame colturale per bacillo di Koch e per micobatteri in genere, è stata prima sperimentata [1] nel nostro laboratorio, e quindi inserita in routine, una metodica che impiega il cloruro di dodecil-di(beta-ossietil)-benzilammonio (Bactofen, Geigy). Si tratta di una tecnica estremamente

semplificata, pertanto specificamente destinata ai laboratori che eseguono giornalmente un gran numero di colture per micobatteri.

Da oltre un anno, nel nostro laboratorio la decontaminazione con Bactofen ha sostituito la metodica basata sull'impiego dell'alfa(p-tolil)-dodecil-trimetilammonioossimetilsolfato (Desogen, Geigy) [2]; è appunto il confronto tra le percentuali di isolamento e di inquinamento ottenute con i due decontaminanti l'oggetto del presente lavoro.

#### MATERIALI E METODI

Delle richieste di esame colturale per bacillo di Koch pervenute al nostro laboratorio la grande maggioranza riguarda l'escreato, seguito nell'ordine da bronco-aspirati, urine, liquidi pleurici e da vari materiali biologici di minore rilevanza numerica.

Si tratta di campioni provenienti per lo più dai reparti dell'ex Arcispedale di « Santa Maria Nuova », ma anche dalle cliniche universitarie fiorentine, da qualche ospedale della provincia e da soggetti non ospedalizzati.

Il confronto riguarda i campioni esaminati tra il maggio 1978 ed il settembre 1980; in particolare, sono stati paragonati i dati relativi agli ultimi 14 mesi in cui la decontaminazione veniva eseguita con Desogen (1 maggio 1978-30 giugno 1979) con quelli di un equivalente periodo (1 agosto 1979-30 settembre 1980) in cui è stato usato il Bactofen; il mese di luglio 1979, in cui è avvenuta la sostituzione, non è stato considerato.

La metodica usata in precedenza prevedeva l'aggiunta di Desogen, diluito allo 0,5% in tampone fosfato, in parti uguali con il materiale ed un tempo di contatto, in termostato a 37°C, di 12 h.

Il Bactofen è stato invece impiegato diluito allo 0,2%, sempre in tampone fosfato, con un tempo di contatto, a 37°C, di 2 h; anche in questo caso, materiale e decontaminante sono stati uniti in parti uguali.

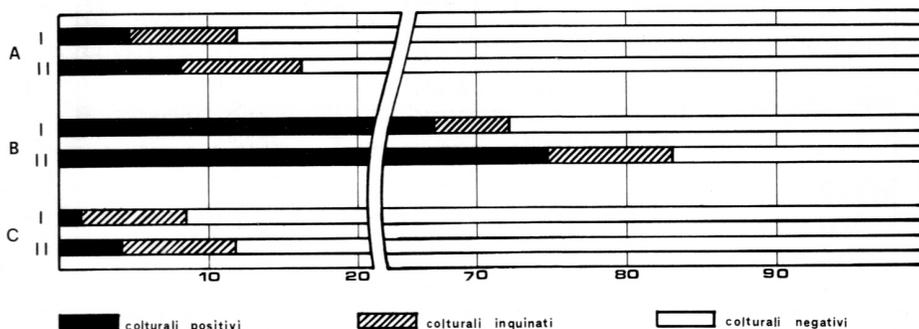
In entrambe le tecniche la semina è stata eseguita su Lowenstein-Jensen inoculando 0,5 ml di materiale per ciascun provettone di terreno.

Gli escreti, prima della decontaminazione (sia con Desogen che con Bactofen) sono stati fluidificati aggiungendo in parti uguali N-acetil-L-cisteina all'1,5% ed incubandoli per almeno 30 min in termostato a 37°C.

La coltura nelle urine è stata eseguita su campioni raccolti sterilmente con il sistema del mitto intermedio.

#### RISULTATI

Nella valutazione dei risultati, escreti e bronco-aspirati sono stati considerati congiuntamente, ottenendo una casistica di 4905 campioni decontaminati con Desogen contro 4383 trattati con Bactofen. La per-



**Figura 1** – Percentuali di isolamento dei micobatteri e di inquinamento, di escreti e bronco-aspirati decontaminati con Desogen (I) e con Bactofen (II): A=sul totale dei campioni; B=sui campioni con esame batterioscopico positivo; C=sui campioni con esame batterioscopico negativo.

centuale di isolamento dei micobatteri è passata (Fig. 1,A) dal 4,7% all'8,3% con un incremento assai rilevante che, in base al calcolo del  $\chi^2$ , è risultato chiaramente significativo. L'aumento delle percentuali di inquinamento è stato invece modestissimo, dal 7,3% all'8%, e statisticamente non significativo.

Un certo interesse presenta anche l'analisi di questi stessi dati valutati in relazione al risultato dell'esame batterioscopico.

Sui campioni con esame batterioscopico positivo (180 decontaminati con Desogen e 225 con Bactofen) la percentuale di positivizzazione delle colture (Fig. 1,B) è passata dal 67,2% al 74,7%, mentre su quelli con batterioscopico negativo (4266 per il Desogen e 3660 per il Bactofen) è salita dall'1,5% al 4,2% (Fig. 1,C).

Di tali incrementi percentuali, mentre quello relativo ad escreti e bronco-aspirati con batterioscopico positivo, pur non essendo trascurabile, non è statisticamente significativo, l'altro, relativo ai campioni con batterioscopico negativo, presenta un valore del  $\chi^2$  molto alto, indice di una chiarissima significatività.

Un andamento diverso si riscontra invece nei risultati relativi agli isolamenti di micobatteri nelle urine (533 campioni decontaminati con Desogen e 434 con Bactofen); in questo caso, infatti, con il cambiamento di metodica, le percentuali di positività sono scese dal 2,6% alla 0,9% (Fig. 2), mentre quelle degli inquinamenti non hanno presentato variazioni sostanziali (3,8% e 3,2% rispettivamente). Si tratta però di spostamenti di valori tutti non significativi dal punto di vista statistico.

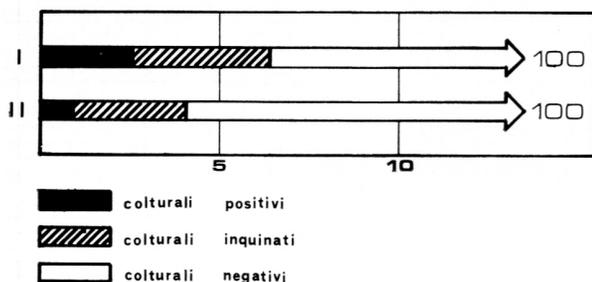


Figura 2 – Percentuali di isolamento dei micobatteri e di inquinamento, di urine decontaminate con Desogen (I) e con Bactofen (II).

Tabella I – Isolamento di MOTT da materiali vari.

Specie	Dopo decontaminazione con:			
	Desogen		Bactofen	
	% relativa	N°	% relativa	N°
<i>M. flavescens</i>	11,1	1	0	—
<i>M. fortuitum</i>	11,1	1	40	6
<i>M. xenopi</i>	33,3	3	26,7	4
<i>M. chelonae</i>	0	—	6,7	1
<i>M. kansasii</i>	0	—	6,7	1
<i>M. scrofulaceum</i>	11,1	1	0	—
<i>M. avium complex</i>	11,1	1	6,7	1
<i>M. smegmatis</i>	0	—	6,7	1
Non classificati	22,2	2	6,7	1

Per quanto concerne, poi, gli altri materiali su cui è stata eseguita la ricerca dei micobatteri, per alcuni, pervenendo al laboratorio solo sporadicamente, il numero è risultato troppo limitato per ricavarne una casistica attendibile, mentre per altri, che pure raggiungevano una certa consistenza numerica, non è stato possibile giungere ad una corretta interpretazione dei dati.

Si tratta, in particolare, dei liquidi pleurici (oltre 650 esaminati nei 28 mesi presi in considerazione con percentuali di positività oscillanti intorno al 5%) che sono stati seminati sui terreni di coltura sia direttamente che previa decontaminazione; è risultato quindi impossibile, al momento della raccolta dei dati, distinguere tra i colturali positivi se la crescita si fosse verificata su tutti i terreni o solo su quelli inoculati prima del contatto con il decontaminante (Desogen o Bactofen, a seconda del periodo esaminato).

Interessanti sono infine le percentuali relative ai micobatteri non tubercolari (MOTT), per i quali si è passati dai 9 isolamenti nei campioni trattati con Desogen ai 15 in quelli decontaminati con Bactofen.

I materiali più interessanti, anche da questo punto di vista, sono gli escreti ed i bronco-aspirati, che concentrano la quasi totalità degli isolamenti dei MOTT, tra i quali si è avuto, con il passaggio al Bactofen, un certo incremento della positività (dallo 0,1 allo 0,3%), anche se non di tale consistenza da risultare significativo in base al calcolo del  $\chi^2$ .

Tra le varie specie di MOTT (Tab. I) i dati raccolti evidenziano soprattutto un maggior numero di isolamenti di *Mycobacterium fortuitum* (6 contro 1) nei campioni trattati con Bactofen.

## DISCUSSIONE

L'analisi dei dati riportati conferma quanto già era emerso in sede di sperimentazione [1]; alle concentrazioni e con i tempi di contatto precedentemente indicati, il Bactofen si è dimostrato, in confronto al Desogen universalmente accettato e già paragonato, con risultati positivi, con i decontaminanti classici [2], chiaramente meno lesivo sul bacillo di Koch e sugli altri micobatteri presenti nei materiali polmonari.

Tra gli escreti ed i bronco-aspirati, infatti, le variazioni delle percentuali di isolamento parlano con marcata evidenza in favore del Bactofen, ed è soprattutto degno di nota l'incremento di positività, altamente significativo, registrando un valore di  $\chi^2 = 54,4$ , nelle colture eseguite sui materiali in cui l'esame microscopico aveva dato esito negativo.

È infatti sui campioni a bassa carica micobatterica, tale quindi da sfuggire all'osservazione microscopica, che la ridotta lesività di un decontaminante ha modo di mettersi maggiormente in evidenza, dal momento che, con l'aumentare della concentrazione dei bacilli, aumenta di pari passo la probabilità che, anche in presenza di una decontaminazione a media od alta lesività, la sopravvivenza di una sia pure esigua minoranza di micobatteri porti alla positivizzazione della coltura.

I dati relativi alle urine, ancorché statisticamente non significativi, si discostano invece dall'andamento generale, presentando, in seguito all'introduzione del Bactofen, una certa riduzione degli isolamenti.

Qualora una tale tendenza dovesse essere confermata, potrebbe suggerire, quando, come nel nostro caso, la ricerca viene eseguita su campioni raccolti sterilmente, l'impiego di Bactofen maggiormente diluito. Una tale modifica non sembra infatti di impossibile attuazione, aven-

dosi a tutt'oggi nelle urine una percentuale di inquinamento piuttosto bassa (3,2%).

Confortanti sono, infine, i dati relativi ai MOTT sui quali la lesività del Bactofen è risultata complessivamente inferiore a quella del Desogen; interessante, a tale proposito, potrebbe essere uno studio comparativo dell'effetto della decontaminazione sulle singole specie che potrebbe chiarire, tra l'altro, se il cospicuo incremento di isolamenti di *Mycobacterium fortuitum* debba essere considerato casuale o legato alla sua buona tolleranza all'azione del Bactofen.

Si può quindi concludere che, pur con qualche riserva per quanto riguarda la decontaminazione delle urine (argomento, questo, che, al pari di quello relativo al trattamento dei liquidi pleurici, merita di essere approfondito), il Bactofen si avvia, dopo aver superato oltre alla fase sperimentale anche la prova dell'applicazione routinaria, ad occupare un posto di tutto rilievo nella ormai numerosa famiglia dei decontaminanti per l'esame colturale dei micobatteri.

#### BIBLIOGRAFIA

- 1 - CARPI TORELLI P, TORTOLI E — Impiego del dodecil-di(beta-ossietil)-benzilammonio cloruro [Bactofen®] come decontaminante nell'esame colturale per la ricerca del bacillo di Koch nell'escreato. *Quad Sclavo Diagn*, 1980, **16**, 196-205.
- 2 - MANDLER F, CORNIA G — Valutazione sull'impiego della N-acetil-L-cisteina e dell'alfa(p-tolil)-dodecil-trimetilammonioossimetilsolfato (Desogen) in paragone alle tecniche convenzionali quale metodo di isolamento dei micobatteri. *Boll Ist Sieroter Milan*, 1967, **46**, 426-435.