

Infezioni da *Pseudomonas aeruginosa* in un Centro Oncologico

FRANCO AMEGLIO e ANTONIETTA PERRELLA

Laboratorio di Analisi Cliniche, Istituto Regina Elena, Roma

Riassunto. — È stata esaminata la distribuzione di *Pseudomonas aeruginosa* urinaria tra i pazienti oncologici ospedalizzati, confrontando con quelli ambulatoriali sia nella condizione di Urinocoltura, in caso di patologia urologica, che in quella di *Screening*, sui malati alla entrata in Ospedale.

I dati sono stati analizzati, anche statisticamente, a livello dei vari e specifici settori di attività assistenziale.

Sugli stipiti isolati si è provveduto a valutare la chemiosensibilità riguardante otto farmaci, scelti fra i più attivi. Limitatamente a Gentamicina e a Colistina sono state effettuate la Concentrazione Minima Inibente (MIC) e la Concentrazione Minima Battericida (MBC).

Attraverso i risultati si tenta di valutare il significato dell'infezione nell'ambito della patologia neoplastica.

Summary (*Pseudomonas aeruginosa* infections in an Oncological Center).— Distribution of *Pseudomonas aeruginosa* was observed, both in cancerous hospitalized and ambulatorial patients, through Uroculture or by Screening at the time of admission in Hospital.

The data have been statistically evaluated according to the specific sectorial activities.

The chemiosensitivity of isolated strains was evaluated for eight antibiotics, selected among the most active ones. Minimal Inhibent Concentration (MIC) and Minimal Bactericidal Concentration (MBC) were also evaluated for Gentamicin and Colistin.

The results obtained are relevant to the significance of *Pseudomonas aeruginosa* infection in neoplastic diseases.

INTRODUZIONE

È ormai comune acquisizione che *Pseudomonas aeruginosa* rappresenti con *Klebsiella*, *Serratia* e *Proteus* un notevole problema microbiologico, clinico-terapeutico, epidemiologico e patogenetico [1-7].

Da più di dieci anni è stato documentato l'incremento di infezioni provocate da tale germe, così come l'ampliarsi dello spettro di localizzazioni ed il preoccupante restringersi dell'antibiotico-sensibilità, frutto di un irrazionale uso della chemioterapia antimicrobica che ha determinato la selezione di ceppi resistenti [8-14].

È ben documentata, del resto, l'acquisizione, da parte di germi ancora sensibili, di resistenza a determinati antibiotici tramite scambio plasmidico di Fattori R, dopo coniugazione batterica o trasduzione virale, eventualità favorita nelle infezioni in ambiente polimicrobico [7, 15-19].

Le statistiche, ottenute su vari campioni biologici, mostrano chiaramente che *Pseudomonas aeruginosa* sta gradualmente superando altri microorganismi quale causa di infezione, tanto da esser visto come il germe più temibile tra i cosiddetti « opportunisti » [20].

Manipolazioni chirurgiche, urologiche, ginecologiche, dermatologiche ed otorinolaringoiatriche, l'uso di creme, pomate, lozioni, ecc., talora inquinate, si sono dimostrate concausa nel facilitare l'infezione, specie se effettuate o applicate in soggetti la cui resistenza risulta diminuita da altre infezioni, ustioni estese, assunzione di droga, immunodepressivi (antiblastici, terapia radiante, cortisonici), chemioterapie prolungate, diabete, leucemie e defedamento in cancerosi [21-36].

Il pericolo in costoro è particolarmente grave, specie se si tratta di portatori asintomatici del germe, che, se virulentato, determina malattia con una percentuale doppia rispetto ai non portatori, senza contare l'aggravante dello stato di immunodepressione, l'età e il periodo protratto di degenza [2, 3, 33, 36, 37].

Si ricorda, sebbene l'argomento necessiti di ulteriori studi, la possibilità, tra l'altro, di un effetto immunodeprimente di prodotti o costituenti batterici nelle infezioni da *Pseudomonas*, con l'instaurarsi di un circolo vizioso « immunodepressione, infezione, ulteriore immunodepressione » favorevole al batterio con conseguente ingravescenza del fenomeno [38-44].

Di contro c'è chi afferma che le Piocine avrebbero azione antimicotica, antibiotica e antiblastica; è dubbio che essa si espliciti *in vivo*, constatate le frequenti associazioni in patologia [45-47].

Le precedenti considerazioni rendono essenziale la conoscenza della situazione epidemiologica ospedaliera, soprattutto in quei Centri che raccolgono soggetti portatori di malattie neoplastiche [2, 3, 31-33, 36].

Lo studio dei meccanismi di contagio intraospedaliero e, conseguentemente, i modi per evitarlo, la scelta degli antibiotici più idonei, rigorose norme igieniche, possono aiutare a combattere o controllare, almeno, una situazione che, per il momento, sembra essere contenuta soltanto dal continuo ricambio di antimicrobici, spesso impropriamente usati e non poco tossici di per sé [2-4, 6-8, 15, 16, 24, 36, 47-52].

Taluni AA. si sono soffermati sull'opportunità, particolarmente nei leucemici e negli ustionati, di usare vaccini e gamma globuline anti *Pseudomonas aeruginosa*; per il momento non sembra esserne stato esteso l'uso [53-55].

Questo lavoro si prefigge di valutare nei malati, all'entrata in Ospedale la frequenza di *Pseudomonas aeruginosa* urinaria, controllando, nel contempo, la carica microbica ai positivi e l'associazione con coliformi, osservando la distribuzione per sesso e verificando l'efficacia del terreno selettivo alla Ceftrimide.

Il confronto dei dati ambulatoriali con quelli di *Screening* e con le Urinocolture inviate, su richiesta medica, in presenza di evidente sintomatologia urologica, la suddivisione dei dati per settore ospedaliero, la stima dell'antibiotico-sensibilità e l'analisi statistica dei risultati completano il piano di lavoro.

Resta da seguire la variazione dovuta a contagio intraospedaliero, la presenza di portatori tra il personale medico e paramedico, la simultanea positività di *Pseudomonas aeruginosa* in urine, feci e saliva e lo stato immunitario dei pazienti.

Questo costituirà motivo di ulteriore indagine.

MATERIALI E METODI

- Identificazione delle Enterobatteriacee: Sistema Enterotube Roche [56].
- Identificazione di *Pseudomonas aeruginosa*: Sistema API 20 E [57, 58].
- Concentrazione Minima Inibente (MIC): Sistema API 10 M [59, 60], Gentamicina (0,25-64 mcg/ml); Colistina (0,25-64 mcg/ml).
- Concentrazione Minima Battericida (MBC): Semina in agar Mueller-Hinton delle brodo-diluizioni antibiotiche senza crescita (mancato viraggio dell'indicatore).
- Antibiogramma: Sistema Kirby-Bauer su agar Sensitest preparato in piastre dalla ditta Roche [61].
- Polidischi antibiotici per antibiogramma: Semplitest K.B. (*Pseudomonas*) I.S.M. con le seguenti distribuzioni: Gentamicina (GM) 10 mcg; Carbenicillina (CB) 50 mcg; Tetraciclina (TE) 30 mcg; Acido Nalidixico (NA) 30 mcg; Tobramicina (NN) 10 mcg; Colistina (CL) 10 mcg; Rifampicina (RA) 30 mcg; Polimixina B (PB) 300 U.I. [62-67].

– Lettura del diametro degli aloni di inibizione come da istruzioni della Casa.

– Isolamento di *Pseudomonas aeruginosa*: Pseudosel agar B.B.L., in provetta a becco di clarino [68-70].

– Isolamento di Enterobatteriacee: MacConkey broth B.B.L., in piastre preparate dalla ditta Roche, MacConkey agar.

– Carica microbica urinaria: Sistema Bacturecult BOUTY [71,72].

– Campionamento: Quantità di 5-10 ml di urine di pazienti all'entrata in reparto, centrifugate e seminate su Pseudosel agar e MacConkey broth; osservazione dopo 24 e 48 ore.

– Le colonie cresciute su Pseudosel agar erano reisolate su MacConkey agar, identificate e saggiate per antibiogramma e MIC, MBC.

I brodi Mac Conkey, se positivi, venivano trasferiti su MacConkey agar per identificazione.

In caso di positività per *Pseudomonas aeruginosa* si provvedeva a richiedere il campione urinario per controllo e conta microbica (*Mitro intermedio*).

RISULTATI

I risultati dell'esame microbiologico delle urine, inviate in Laboratorio dall'Ambulatorio o dai Reparti, per Urinocolture o per il nostro *Screening*, per un periodo di circa 5 mesi, sono riassunti nella Tab. 1 e visualizzati percentualmente nella Fig. 1.

TABELLA 1

Presenza di *Pseudomonas aeruginosa* nelle urine testate in diverse condizioni

C A M P I O N E	Urine	PS + (*)	%
Urinocolture (ambulatorio)	56	6	10,7
Urinocolture (interni)	68	30	44,1
Screening (ambulatorio)	200	8	4
Screening (interni)	700	65	9,3

(*) PS + = *Pseudomonas aeruginosa* positività.

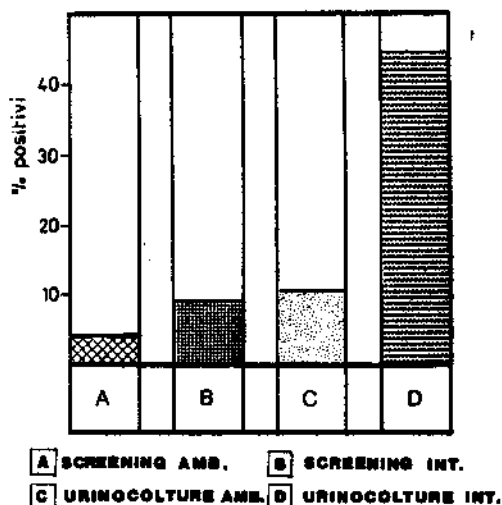


Fig. 1. — Distribuzione di *Pseudomonas aeruginosa* in Urinocolture e Screening su pazienti ospedalizzati e ambulatoriali. Valori percentuali.
AMB = Ambulatorio; INT = Interni.

L'analisi statistica effettuata confrontando le differenze percentuali mostra variazioni significative tra l'Ambulatorio e l'Ospedale nelle diverse condizioni osservate:

$$\chi^2 (A/B) = 5,14 \quad 0,05 > p > 0,01$$

$$\chi^2 (C/D) = 15,04 \quad p < 0,001$$

TABELLA 2

Distribuzione di *Pseudomonas aeruginosa* urinaria valutata per settori di attività ospedaliera e confrontata con l'ambulatorio

SCREENING: SETTORI	Urine	PS + (*)	%
Terapia del dolore	100	23	23
Radioterapia	100	13	13
Ginecologia	100	9	9
Neurochirurgia	50	4	8
Urologia	50	3	6
Medicina	100	5	5
Chirurgia generale	200	8	4
Ambulatorio	200	8	4

(*) PS + = *Pseudomonas aeruginosa* positività.

L'osservazione più particolareggiata dei dati ospedalieri a livello dei settori operativi, evidenzia una concentrazione particolarmente significativa di *Pseudomonas* urinaria nel reparto di Terapia del dolore:

$$\chi^2 (I/O \%) = 15,44 \quad \dots \quad p < 0,001$$

dove % O sta per percentuale ospedaliera.

I valori numerici sono riportati nella Tab. 2 e visualizzati in percentuale nella Fig. 2. La disposizione degli istogrammi è stata ordinata in maniera decrescente. L'aumento che si può notare nel settore della Radioterapia, pur se superiore alla % O, non risulta, tuttavia, statisticamente significativo.

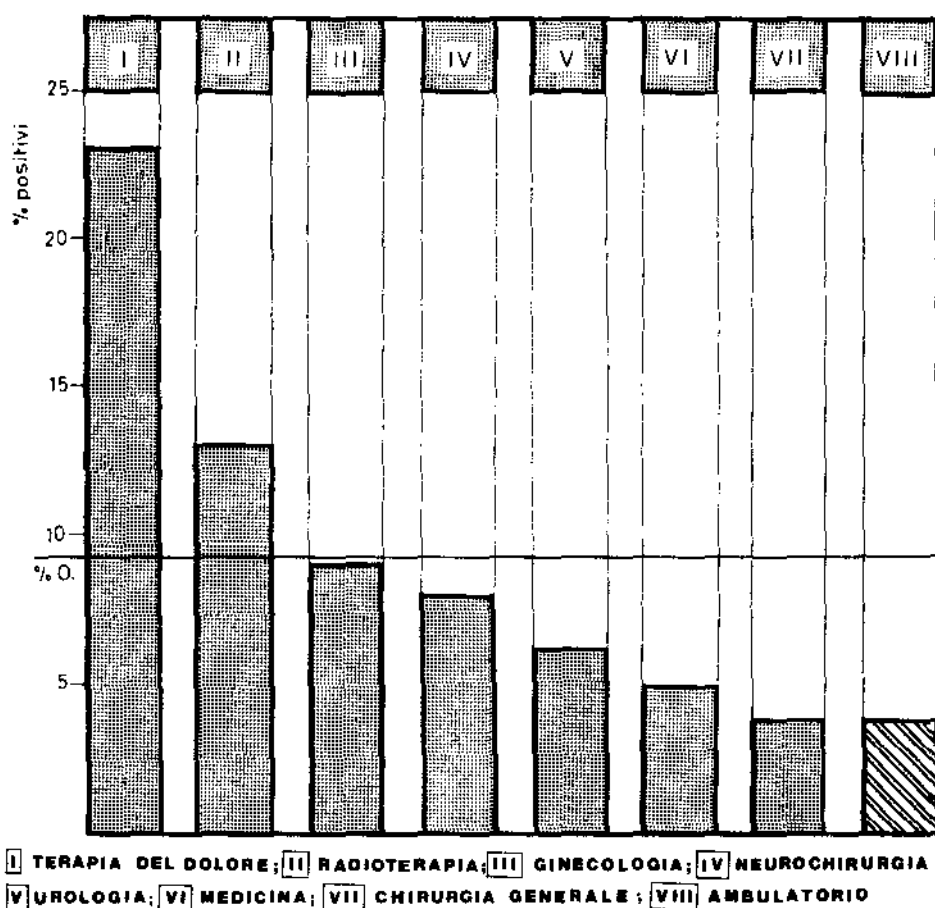


Fig. 2. — Distribuzione percentuale di *Pseudomonas aeruginosa* urinaria per settori ospedalieri raffrontati all'ambulatorio. % O = Percentuale ospedaliera. Istogrammi disposti in ordine decrescente.

La Tab. 3 dimostra che, con il nostro sistema di semina di urine concentrate per centrifugazione e, quindi, particolarmente ricche di materiale microbico, il terreno selettivo alla Cetrimide permette la crescita di colonie identificabili come *Pseudomonas aeruginosa* soltanto nel 45,9 % dei casi; le restanti colonie risultano per lo più appartenere alla specie *Proteus* o *Escherichia*.

TABELLA 3

**Efficacia del terreno selettivo alla Cetrimide « Pseudocel »
per l'isolamento di *Pseudomonas aeruginosa* da campioni urinari
concentrati per centrifugazione**

URINE SCREENING	Pseudocel +	Pseudomonas +	Altre specie isolate
900 {	TOTALE 159 % 17,6	TOTALE 73 % 8,1	Protens 80 % E. coli Klebsiella Enterobacteriacee Serratia } 20%
% <i>Pseudomonas</i> su pseudocel +	45,9		

Si è notato un solo caso di *Pseudomonas* isolato da MacConkey e non da Pseudocel e solo tre stipiti di altri tipi di *Pseudomonas*.

Non si è riscontrata differenza accettabile tra urine positive per il germe, ottenute da soggetti maschili (9 %) o femminili (8,6 %), mentre ci sembra interessante notare il frequente polimicrobismo e la carica microbica elevata in uno su tre pazienti circa (Tab. 4), dati che avvalorano la frequenza delle ricadute, la difficoltà terapeutica e l'incidenza di forme patologiche.

TABELLA 4

**Valutazione della associazione di *Pseudomonas aeruginosa* urinaria
con germi coliformi e con la presenza di carica batterica
superiore a 10^5 germi/ml**

<i>Pseudomonas</i> + con MacConkey B. +	<i>Pseudomonas</i> + con carica batterica > 10^5 germi/ml
TOTALE 45/73 % 61,6	TOTALE 26/73 % 35,6

Per quanto riguarda la chemiosensibilità, sono stati esaminati i risultati degli antibiogrammi con il metodo degli aloni di inibizione e tabulati nella Tab. 5. La Fig. 3 rappresenta gli stessi dati visualizzati percentualmente nelle tre categorie: S = Sensibile; I = Intermedio; R = Resistente.

Il numero totale degli stipti testati assomma quelli dello *Screening* e altri da Urinocolture effettuate precedentemente con analoga metodologia.

TABELLA 5

Antibiotico sensibilità di 105 stipti di *Pseudomonas aeruginosa* urinaria di recente isolamento

(Metodo Kirby-Bauer)

ANTIBIOTICO	S	I	R
Polimixina B	82	2	21
Colistina	67	12	26
Tobramicina	61	8	36
Gentamicina	59	3	43
Rifampicina	11	23	71
Acido Nalidixico	11	4	90
Carbenicillina	7	9	89
Tetraciclina	4	3	78

S = Sensibile; I = Intermedio; R = Resistente

Per Gentamicina e Colistina sono state ricavate MIC ed MBC (su 73 dei 105 stipti), i cui risultati sono riportati nella Tab. 6 e, in percentuale, nella Fig. 4.

Riconsiderando, infine, la sensibilità ai farmaci ottenuta con l'antibiogramma e valutando, per nostra convenzione e per semplificare il sistema, solo la « Sensibilità » (S + I corrispondente a +) o la « Insensibilità » (R corrispondente a -), si può notare nella Fig. 5 la distribuzione percentuale degli stipti isolati rispetto alle combinazioni di sensibilità trovate in riferimento ai 4 antibiotici più attivi e cioè: Gentamicina, Tobramicina, Polimixina B e

Colistina. All'interno dello spazio di ogni istogramma raffigurato e rappresentante la percentuale generale ospedaliera di stipiti trovati con le combinazioni di sensibilità suddette, si è voluto sottolineare anche la componente riferibile ai reparti di Terapia del dolore e Radioterapia. La disposizione degli istogrammi è stata ordinata in maniera decrescente.

Nella Fig. 6, invece, si può valutare la distribuzione percentuale degli stipiti isolati rispetto al numero di antibiotici attivi sugli otto saggiati.

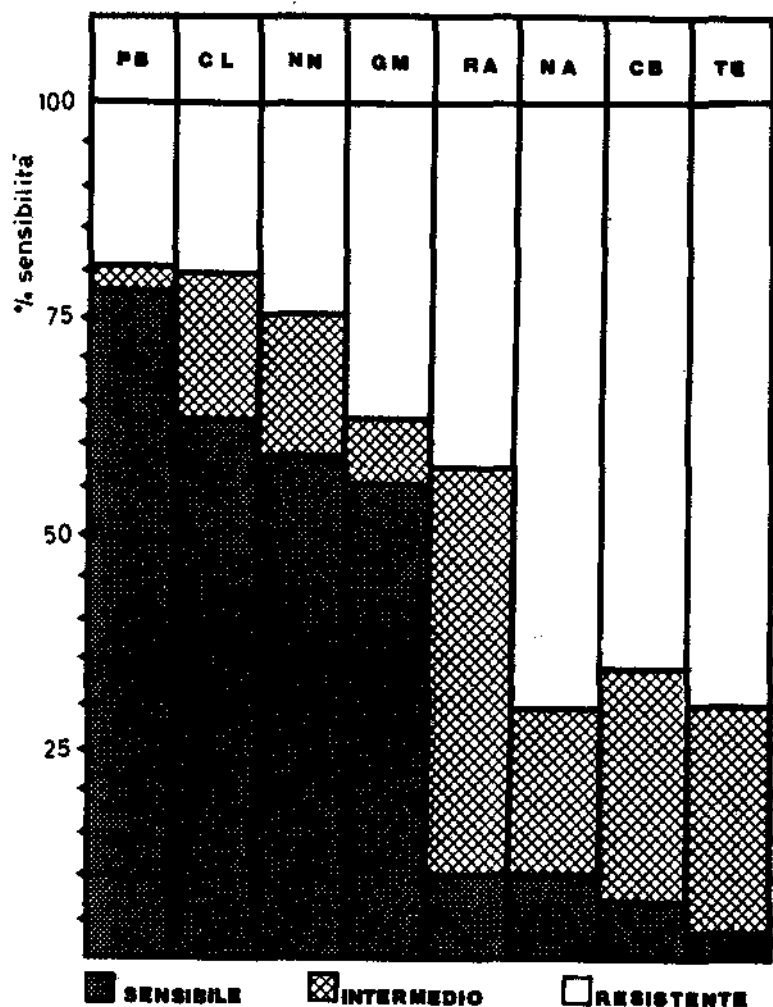


Fig. 3. — Valutazione della percentuale di chemiosensibilità di 105 stipiti di *Pseudomonas aeruginosa* urinaria saggiata contro otto differenti antibiotici (Metodo Kirby-Bauer).

PB = Polimixina B; CL = Colistina; NN = Tobramicina; GM = Gentamicina; RA = Rifampicina; NA = Ac. Nalidixico; CB = Carbenicillina; TE = Tetraciclina.

TABELLA 6

MIC e MBC per Colistina e Gentamicina valutate su 73 stipiti urinari di *Pseudomonas aeruginosa* di recente isolamento

(Micrometodo API 10M)

mcg/ml	Gentamicina		Colistina	
	MIC	MBC	MIC	MBC
0,25	0	0	0	0
0,50	9	2	1	0
1	16	5	8	3
2	27	18	20	14
4	34	32	30	22
8	45	44	54	44
16	49	48	62	59
32	49	49	62	62
64	49	49	62	62

DISCUSSIONE

I risultati riportati in Fig. 1 mostrano un chiaro aumento, all'interno dell'Ospedale, della percentuale di *Pseudomonas aeruginosa*, significativo sia nella condizione Urinocolture, che nella condizione *Screening*.

Altri AA. riportano dati estremamente variabili e talora discordanti, forse perché ciascuno studioso si riferisce a condizioni differenti di campionamento: Urinocolture, Batteriurie significative, *Screening*, in Centri a specializzazioni diverse; talora non vengono separati neppure gli stipiti urinari da quelli provenienti da distretti differenti [17, 26, 36, 49, 56, 60, 63, 66, 73-77].

All'interno dell'Ospedale, quindi, non solo aumenta la percentuale di portatori di *Pseudomonas* urinari ma aumenta anche la patologia dovuta a tale germe, confermando così anche gli studi di chi ha calcolato che nei portatori si ha probabilità doppia di malattia [2].

Analizzando, inoltre, i risultati dello *Screening* a livello dei settori di attività ospedaliera spicca l'alta percentuale di positività nei campioni urinari provenienti dalla Terapia del dolore. Si tratta del Reparto nel quale l'unico obiettivo terapeutico possibile è quello di combattere il dolore, trattandosi di pazienti nei quali la malattia ha superato i limiti della curabilità efficace. Questi pazienti arrivano in tale settore, spesso, dopo precedenti degenze in altri Reparti del nostro e di altri Ospedali e frequentemente risultano aver

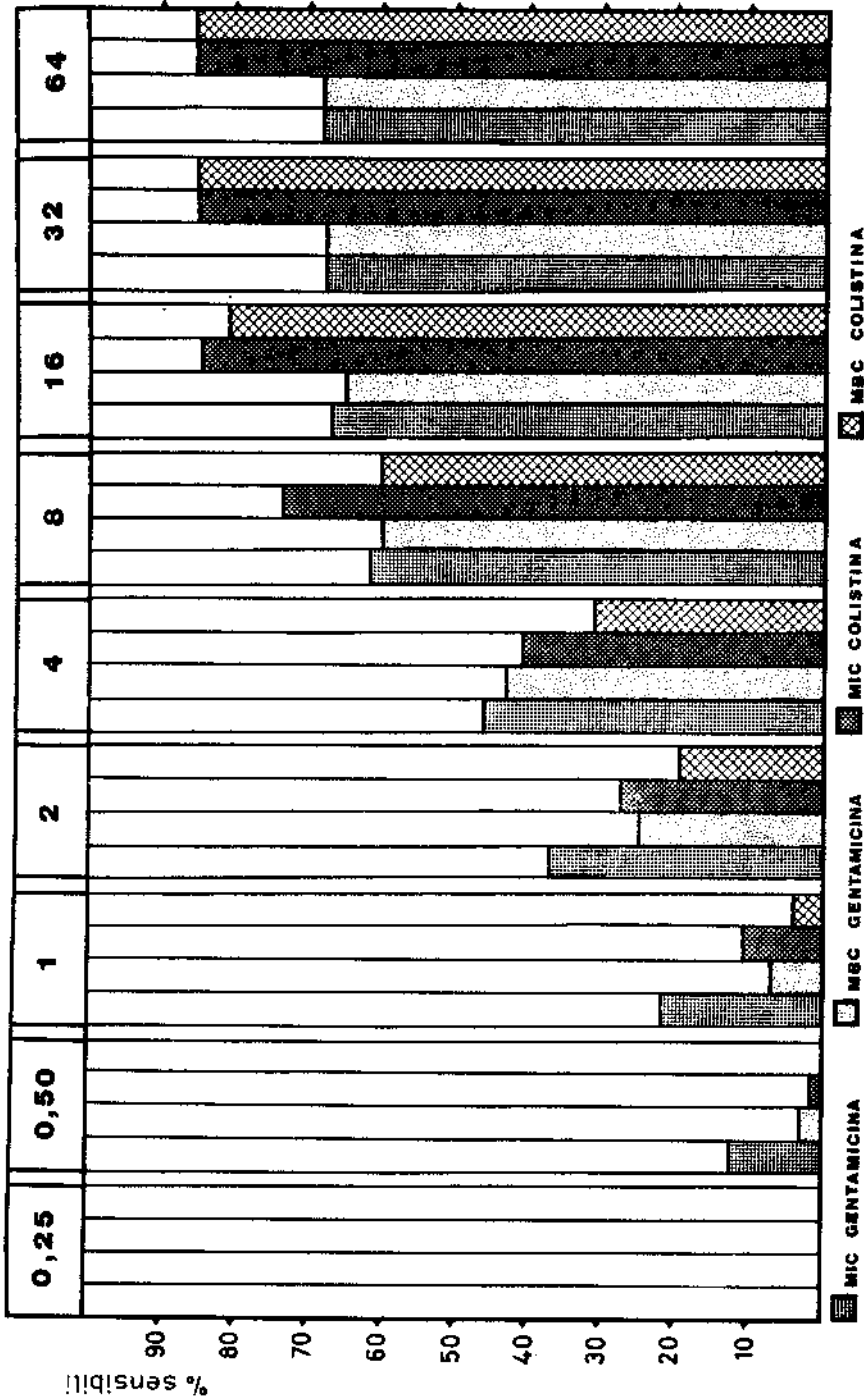


Fig. 4. -- Valutazione percentuale di MIC e MBC di Colistina e Gentamicina su *Pseudomonas aeruginosa* urinaria. (Concentrazioni antibiotiche in mcg/ml: 0,25 — 0,50 — 1 — 2 — 4 — 8 — 16 — 32 — 64). 73 stipi saggiati.

subito terapia radiante e antiblastica, col risultato di presentarsi in condizioni immunitarie scadute, associate a defedamento organico di vario grado.

Diversi AA., inoltre, si sono soffermati sul fatto che *Pseudomonas* possederebbe peculiari caratteristiche, tali da differenziarne il comportamento rispetto alle infezioni da altri Gram-negativi [78]. Infatti, risulta evidente un modello infettivo a se stante per *Pseudomonas aeruginosa* quando si considerino i lavori di quegli AA. che hanno posto attenzione alle proprietà immunodeprimenti della infezione da tale germe. Queste proprietà risulterebbero legate soprattutto alla immunità cellulare attraverso una inibizione aspecifica, e forse anche specifica, agente sulla subpopolazione dei linfociti soppressori [30, 39-43].

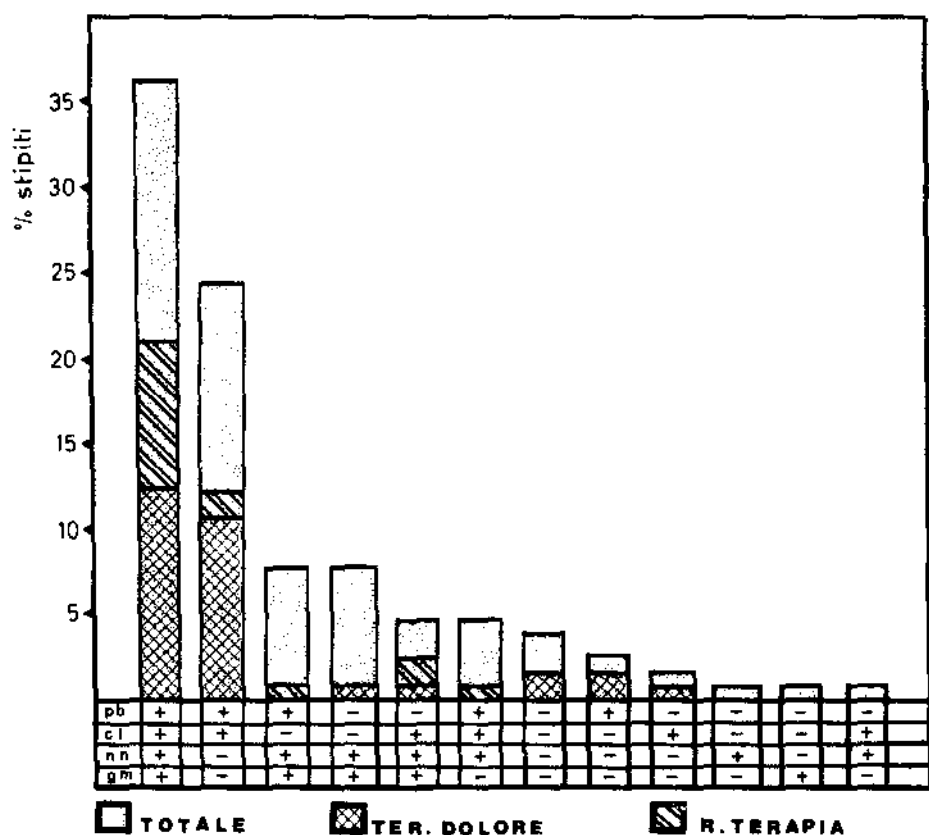


Fig. 5. — Distribuzione percentuale di stipiti di *Pseudomonas aeruginosa* urinaria rispetto alle combinazioni di antibiotico-sensibilità riscontrate per Gentamicina (GM), Tobramicina (NN), Colistina (CL), Polimixina B (PB).

Le suddivisioni all'interno degli istogrammi rappresentano le componenti dei settori: Terapia del dolore e Radioterapia. Istogrammi disposti in ordine decrescente.

Ci si deve chiedere, a questo punto, quale influenza eserciti l'Ospedale nel facilitare l'infezione, tramite contagio, in pazienti così indifesi.

AA. americani ed inglesi, soprattutto, hanno già risposto mostrando risultati piuttosto preoccupanti nel senso della dimostrazione di una forte incidenza di contagio intraospedaliero. Non possediamo dati italiani recenti in merito [2, 7, 8, 16, 23, 37, 47-50, 52].

Se ci soffermiamo ora sul problema della chemioterapia, l'osservazione della Fig. 3 mostra una notevole antibiotico-resistenza, alta anche nei confronti della Gentamicina che, solitamente, viene considerata il farmaco di elezione.

Notoriamente le infezioni intraospedaliere sono caratterizzate da elevata resistenza del ceppo [7, 15, 16, 23]. Quindi, nell'ambito di una stessa istituzione ospedaliera si possono avere dei veri e propri ceppi di Reparto. Del resto, l'osservazione della distribuzione delle combinazioni di antibiotici (Fig. 5) indica nel Reparto Terapia del dolore circa il 50 % di stipiti resistenti a Gentamicina e Tobramicina e sensibili, invece, a Polimixina B e Colistina.

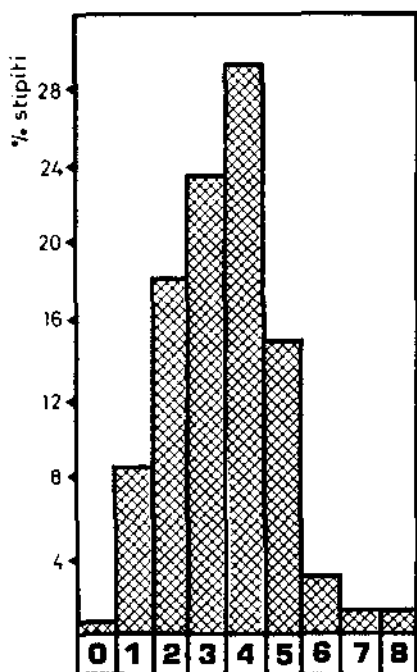


Fig. 6. — Distribuzione percentuale di 105 stipiti di *Pseudomonas aeruginosa* urinaria in rapporto al numero di antibiotici attivi. (Gentamicina, Tobramicina, Colistina, Polimixina B, Tetraciclina, Ac. Nalidixico, Carbenicillina e Rifampicina).

La Polimixina B, purtroppo, pur avendo la maggior percentuale di attività è un farmaco poco utilizzabile per la sua elevata tossicità [79].

Infine, a scoraggiare una terapia non mirata e non conseguente a precise indagini microbiologiche delle infezioni urinarie da *Pseudomonas*, spesso così frequenti nei malati immunodepressi, serve l'esame della Fig. 6, dalla quale si evince la distribuzione degli stipti isolati rispetto al numero di antibiotici attivi.

Anche scegliendo la Colistina, che sembra il farmaco più attivo dopo la Polimixina B, non si può sperare in un risultato superiore al 62 %, valore piuttosto basso in confronto a quello di altri AA., riscontrato in Ospedali a differenti caratteristiche [60, 63, 66, 73].

A complicare la situazione interviene il frequente polimicrobismo nelle infezioni che abbiamo osservato e di qui la necessità di trovare farmaci attivi su germi differenti e a diverso spettro di sensibilità, senza dimenticare l'attuale sfiducia nei riguardi delle associazioni antibatteriche che non siano più che sperimentate [80].

Purtroppo è da rilevare anche che si presentano associazioni microbiche di germi poliresistenti, tra cui il *Proteus rettgeri* di cui è ben nota la difficoltà terapeutica.

L'unica soluzione che ci sembra razionale in queste condizioni, a parte l'uso dell'immunoterapia attiva e passiva, peraltro ancora in fase sperimentale, è il rigoroso controllo delle condizioni igieniche [7, 55].

CONCLUSIONI

La distribuzione non casuale della frequenza di *Pseudomonas aeruginosa* urinaria non appare legata soltanto a situazioni ambientali; esprime piuttosto, indirettamente, la condizione di certi malati neoplastici caratterizzati da uno stato di immunodepressione conseguente la malattia o il tipo di terapia, sia radiante che antiblastica.

In tal senso, ossia allo studio della quantizzazione della immunodepressione, è rivolta l'attenzione degli AA. nel tentativo di interpretare una situazione purtroppo frequente perché legata alla fragilità delle difese del malato.

Quanto poi ad aggravare queste possa contribuire l'infezione da *Pseudomonas aeruginosa* per un effetto inibitore della immunità cellulare, chiudendo il circolo « malattia immunodeprimente, infezione immunodeprimente », può essere motivo di approfondimento di una patologia che esige anche maggiori attenzioni igieniche, dato il concorso in Ospedale di malati particolarmente esposti.

Ricevuto il 14 luglio 1978.

Accettato il 7 novembre 1978.

BIBLIOGRAFIA

1. FOLEY, F. D., GREENAWALD, K. A., NESH, G. & PRUITT, B. A. 1969. Pathology of *Pseudomonas* infection. *Texas Med.* **65**: 36-39.
2. BODEY, G. P. 1970. Epidemiological studies of *Pseudomonas* species in patients with leukemia. *Am. J. Med. Sci.* **260**: 82-89.
3. ARMSTRONG, D., YOUNG, L. S., MEYER, R. D. & BLEVINS, A. H. 1971. Infections complications of neoplastic disease. *Med. Clin. North. Am.* **55**: 729-745.
4. YOUNG, L. S. & ARMSTRONG, D. 1972. *Pseudomonas aeruginosa* infections. *CRC. Critical Rev. Clin. Lab. Sci.* 291-347.
5. Unsigned Editorial. 1969. Resistant *Pseudomonas*. *Lancet*. **ii**: 473-475.
6. BRUUN, F. N. *et al.* 1976. Epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* infections. Determination by Pyocyn typing. *J. Clin. Microbiol.* **3**: 264-270.
7. CASEWELL, M. W. 1978. R-Factor mediated Gentamicin resistance in *Klebsiella aerogenes*. A new problem in nosocomial infection. *Convegno Nazionale su: Basi Biologiche della Terapia Antibiotica*. Firenze 11-12 nov. 1977.
8. ADLER, J. L., BURKE, J. P. & FINLAND, M. 1971. Infection and antibiotic usage at Boston City Hospital. *Arch. Intern. Med.* **127**: 460-465.
9. DODGETT, R. G., HARRISON, G. M., SILLWELL, R. N. & WALLIS, E. S. 1966. An atypical *Pseudomonas aeruginosa* associated with cystic fibrosis of the pancreas. *J. Pediat.* **68**: 215-221.
10. CURTIN, J. A. & PETERSDORF, R. G. 1961. *Pseudomonas* bacteremia: Review of ninety-one cases. *Ann. Intern. Med.* **54**: 1077-1107.
11. TINDEL, J. R. *et al.* 1971. Septic arthritis due to *Pseudomonas aeruginosa*. *J.A.M.A.* **218**: 559-561.
12. REYNES, M. P., PAUTKE, W. A., WYLYN, R. F., LEARNER, A. M. 1973. *Pseudomonas* endocarditis in The Detroit Medical Center 1969-1972. *Medicine (Baltimore)* **52**: 173-194.
13. ROSE, H. D., HECKMAN, M. G. & LINGER, J. D. 1973. *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia in adults. *Am. Rev. Resp. Dis.* **107**: 416-422.
14. SÄRLINGER, C. B., SNELL, K., HOLDER, I. A. 1977. Experimental studies on the pathogenesis of infection due to *Pseudomonas aeruginosa*. Direct evidence for toxin production during *Pseudomonas* infection of burned skin. *J. Infect. Dis.* **136**: 555-561.
15. FINLAND, M. 1970. Changing ecology of bacterial infections as related to antibacterial therapy. *J. Infect. Dis.* **122**: 419-431.
16. ROSE, H. D. & SCHEIER, J. 1968. The effect of hospitalization and antibiotic therapy on the Gram-negative fecal flora. *Am. J. Clin. Sci.* **255**: 228-235.
17. MICHEL BRIAND, J., DUPONT, M. J. & PERRET, T. 1975. Action des antibiotiques sur le bacille Pyocyane. Influence du sérotype et de la localisation dans la résistance. *Biomedicine*. **23**: 218-225.
18. MEYNELL, G. G. 1972. *Drug Resistance and Other Bacterial Plasmids*. MacMillan Ed.
19. CHABBERT, J. A. 1973. Données actuelles sur la résistance des bactéries aux antibiotiques. *Actual Pharmacol.* **26**: 27-37.
20. GOULD, J. C. 1971. Opportunists and opportunity in infection. *Bacterial Infection (Bayer Symposium III)* Springer-Verlag; Berlin, Heidelberg; New York. Ed. Finland.

21. SULLIVAN, N. M., SUTTER, V. L., MINS, M. M., MARSH, V. H. & FINEGOLD, J. M. 1973. Clinical aspect of bacteremia after manipulation of genitourinary tract. *J. Infect. Dis.* **127**: 49-55.
22. THONG, M. L. *et al.* 1975. Septicemia from prolonged intravenous infusions. *Arch. Dis. Child.* **50**: 886-889.
23. JOHANSON, W. G., PIERCE, A. K. & SANFORD, J. P. 1969. Changing pharyngeal bacterial flora of hospitalized patients. Emergence of Gram-negative bacilli. *N. Engl. J. Med.* **281**: 1137-1140.
24. LOWBURY, E. J. L., THOMBS, B. T., LILLY, H. A., BABB, J. R., WHITTAL, K. 1970. Sources of infections with *Pseudomonas aeruginosa* in patients with tracheostomy. *J. Med. Microbiol.* **3**: 39-56.
25. RABIN, E. R., GRABER, C. D., VOGEL, C. H., FINKELSTEIN, R. A. & TUMBUSH, W. A. 1961. Fatal *Pseudomonas* infection in burned patients. *N. Engl. J. Med.* **265**: 1225-1231.
26. PRUITT, B. A., JR. 1974. Infection caused by *Pseudomonas* species in patients with burns and other surgical patients. *J. Infect. Dis.* **130** (S): S8-S13.
27. WURSTER, N., ELSBACH, P., SIMON, E. J., PETTIS, P. & LEBOW, S. 1971. The effect of the morphine analogue levorphanol on leukocytes. *J. Clin. Invest.* **50**: 1091-1099.
28. MALAWISTA, S. E. 1971. Vinblastine, colchicine-like effects on human blood leukocytes during phagocytosis. *Blood*, **37**: 519-529.
29. MANDELL, G. L., RUBIN, W. & HOOK, E. W. 1970. The effect of an NADH oxidase (Hydrocortisone) on polymorphonuclear leukocytes bactericidal activity. *J. Clin. Invest.* **49**: 1381-1388.
30. STRAUSS, R. R., PAUL, B. B. & SEARRA, A. J. 1968. Effect of phenyl-butazone on phagocytosis and intracellular killing by guinea pig polymorphonuclear leukocytes. *J. Bacteriol.* **96**: 1982-1990.
31. WHITECAR, J. P., JR., LUNA, M. & BODEY, G. P. 1970. *Pseudomonas* bacteremia in patients with malignant disease. *Am. J. Med. Sci.* **260**: 216-223.
32. FISHMAN, M. L. & ARMSTRONG, D. 1972. *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia in patients with neoplastic disease. *Cancer*, **30**: 764-773.
33. TAPPER, M. L. & ARMSTRONG, D. 1974. Bacteremia due to *Pseudomonas aeruginosa* complicating neoplastic disease. A progress report. *J. Infect. Dis.* **130** (S) S 14-S17.
34. SURGALLA, M. J., NETER, E. & FITZPATRICK, J. E. 1975. Antibody response of patients with malignancies to bacteremia with Gram-negative bacteria. *J. Clin. Microbiol.* **1**: 298-301.
35. LEVINE, A. J., GRAW, R. G. & YOUNG, R. C. 1972. Management of infections in patients with leukemia and lymphoma: current concepts and experimental approaches. *Semin. Hematol.* **9**: 141-179.
36. SCHIMPF, S. C., GREENE, W. H., YOUNG, V. M. & WIERNIK, P. H. 1974. Significance of *Pseudomonas aeruginosa* in the patient with leukemia or lymphoma. *J. Infect. Dis.* **130** (S): S24-S31.
37. BENNETT, J. U. 1974. Nosocomial infection due to *Pseudomonas*. *J. Infect. Dis.* **130** (S): S4-S7.
38. STONE, H. H., GIVEN, K. S. & MARTIN, J. D. 1967. Delayed rejection of skin homografts in *Pseudomonas* sepsis. *Surg. Gynecol. Obstet.* **124**: 1067-1070.
39. FLOERSHEIM, G. L., HOPPF, W. H., CASSER, M. & BUCKER, K. 1971. Impairment of cell-mediated immune responses by *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin. Exp. Immunol.* **9**: 241-247.

40. FLOERSHEIM, G. L. 1969. Suppression of cellular immunity by Gram-negative bacteria. *Antibiot. Chemoter.* 15: 407-411.
41. SHWARTZMANN, S., BORING III, Jr. 1970. Antyphagocytic effect of slime from a mucoid strain of *Pseudomonas aeruginosa*. *Infect. Immun.* 3: 762-767.
42. CAMPA, M., GARZELLI, C. & FALCONE, G. 1975. Depression of contact sensitivity and enhancement of antibody response in *Pseudomonas aeruginosa* infected mice. *Infect. Immun.* 12: 1252-1257.
43. CAMPA, M., GARZELLI, C., FERRANNINI, E. & FALCONE, G. 1976. Suppressor cell activity associated with depression of contact sensitivity in *Pseudomonas aeruginosa* infected mice. *Clin. Exp. Immunol.* 20: 335-362.
44. COSTA, A. L. & CUSUMANO, V. 1973. Attività antimicotica delle Piocianine in vitro ed in vivo su di un ceppo patogeno di *Candida albicans*. *Giorn. Batt. Virol. Immunol.* 66: 297-303.
45. FUMAROLA, D., BELLO, P., PALMA, R., MIRAGLIOTA, G. & PANSO, A. 1977. Le Batteriocine come agenti citotossici nelle neoplasie sperimentali: considerazioni sul ruolo di possibili contaminanti. *Giorn. Batt. Virol. Immunol.* 70: 87-90.
46. SHOENTAL, R. 1941. The nature of the antibacterial agents present in *Pseudomonas Pyocyanea* culture. *Br. J. Exp. Pathol.* 22: 137-147.
47. HURST, V., SUTTER, V. I. 1966. Survival of *Pseudomonas aeruginosa* in the hospital environment. *J. Infect. Dis.* 116: 151-154.
48. SHOOTER, R. A., WALKER, K. A., WILLIAMS, V. R., MORGAN, G. M., PARKER, M. T., ASHESHOW, E. T., BULLIMORE, J. F. 1966. Faecal carriage of *Pseudomonas aeruginosa* in hospital patients. Possible spread from patient to patient. *Lancet*. ii: 1331-1333.
49. STAMM, W. E., MARTI, S. M., BENNET, J. V. 1977. Epidemiology of nosocomial infections due to Gram-negative. *J. Infect. Dis.* 136: (S): 151-160.
50. FEINGOLD, D. S. 1970. Hospital acquired infections. *N. Engl. J. Med.* 283: 1384-1391.
51. RAMPLING, A. & WITBY, J. L. 1972. *Pseudomonas aeruginosa* contamination in domestic and hospital environments. *Lancet*. i: 115-17.
52. THOMAS *et al.* 1975. Epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* in a general hospital. A four years study. *J. Clin. Microbiol.* 2: 397-410.
53. YOUNG, L. S., MEYER, R. D. & ARMSTRONG, D. 1973. *Pseudomonas aeruginosa* vaccine in cancer patients. *Ann. Intern. Med.* 79: 518-527.
54. ALEXANDER, J. W. & FISHER, M. W. 1974. Immunization against *Pseudomonas* in infection after thermal injury. *J. Infect. Dis.* 130 (S): 152-158.
55. FISHER, M. W. 1977. A polyvalent human globulin immune to *Pseudomonas aeruginosa*. Passive protection of mice against lethal infection. *J. Infect. Dis.* 136 (S): S181-S185.
56. CIRILLO, G. 1976. Nuove metodiche di ricerca nel campo delle Batteriurie, correlazione tra il metodo agar-batteri ed il Sistema Urotube-Enterotube. *Quad. Sclavo Diagn.* 12: 104-110.
57. WILLIS, G. & COOK, I. J. Y. 1975. A comparative study of API, encise and conventional methods. *Med. Technol.* 5: 4-9.
58. HOLMES, B., WILLCOX, W. R., Lapage, S. P. & MALNICK, H. 1977. Test reproducibility of the API 20 E, Enterotube and Pathotec systems. *J. Clin. Path.* 30: 381-387.
59. RYKNER, G. & SCAVIZZI, M. R. 1972. Détermination de la concentration minime inhibitrice des antibiotiques par microméthode. *Pathol. Biol.* 20: 903-907.

60. SCAVIZZI, M. R., RYKNER, G. 1974. Sensibilità des Entérobacteries à la Colistine. Utilisation d'une microméthode. *Pathol. Biol.* **22**: 329-335.
61. BAUER, A. W., KIRBY, W. M., SHERRIS, J. C. & TURK, M. S. 1960. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. *Am. J. Clin. Pathol.* **45**: 493-510.
62. ACAR, J. F. 1974. La Rifampicine dans les infections bactériennes en dehors de la tuberculose. *Rev. Prat.* **21**: 122-127.
63. TENAGLIA, R., LIBERTI, M., GENTILE, U., CRINITI, P., DI SILVERIO, F. La Colimicina nelle batteriurie significative. *Minerva Urologica*. In corso di stampa.
64. RIFF, L. J. & JACKSON, G. G. 1971. Pharmacology of Gentamicin in man. *J. Infect. Dis.* **124** (S): S98-S105.
65. BELL, S. M. & SMITH, D. D. 1969. Resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to Carbenicillin. *Lancet* **i**: 753-754.
66. ADLER, J. L. & FINLAND, M. 1971. Susceptibility of recent isolates of *Pseudomonas aeruginosa* to Gentamicin, Polymyxin and five other Penicillin, with observation on the pyocin and immunotypes of the strains. *Appl. Microbiol.* **22**: 870-875.
67. BRITT, M. R., CARIBALDI, R. A., WILLEERT, J. N. & SMITH, C. B. 1971. In vitro activity to Tobramycin and Gentamicin. *Antimicrob. Ag. Chemother.* **2**: 236-241.
68. LAMBE, D. W. & STEWART, P. 1972. Evaluation of Pseudose agar as an aid in the identification of *Pseudomonas aeruginosa*. *Appl. Microbiol.* **23**: 377-379.
69. BROWN, V. I. & LOWBURY, E. J. L. 1965. Use of an improved Cetrimide agar medium and other cultural methods for *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Clin. Pathol.* **18**: 752-758.
70. MOLINAS, M., MENOZZI, M. G., MEDICI, C. & AMBROSOLI, G. 1975. Valutazione di diversi terreni di coltura per l'isolamento dello *Pseudomonas*. *Ann. Sclavo*. **17**: 202-208.
71. MAC KAY-SCOLLAY, E. M. 1969. A simple quantitative and qualitative microbiological screening test for bacteriuria. *J. Clin. Path.* **22**: 651-653.
72. WALTON, M. G., JR. & KUNING, G. N. 1971. Significance of borderline counts in Screening programs for bacteriuria. *J. Pediat.* **78**: 246-249.
73. MOIRAGHI, RUGGENINI, A., ADORNO, E. & COLUCCIA, S. 1977. Sensibilità agli antibiotici di 857 stipiti microbiologici isolati in Torino da copro ed uroculture. *G. Batteriol. Virol. Immunol.* **70**: 60-67.
74. SCHITO, F. & SCHITO, G. C. 1973. Presenza di sostanze antibatteriche nelle urine e valutazione quantitativa delle batteriurie. *Quad. Sclavo, Diagn.* **9**: 964-973.
75. CIAMPFENIL, R. & CURCIER, H. 1970. Etude de l'activité de l'Acide Nalidixique sur 3186 souches de Bacilles à Gram-négatif. Application au traitement des infections urinaires. *Presse Méd.* **77**: 48-55.
76. KASS, E. H. 1966. Asymptomatic infections of the urinary tract. *Trans. Ass. Amer. Physicians.* **69**: 56-66.
77. DUVAL, J., ATLAN, G., GOUDIN, H., KERZONCUG, A., MATHIEU SAINT LAURENT, P. & MONE, M. 1969. Niveau et évolution de la résistance des bacilles à Gram-négatif. *Pathol. Biol.* **17**: 825-830.
78. ZIEGLER, E. J., DOUGLAS, H. & BRAUDE, A. I. 1974. Experimental bacteremia due to *Pseudomonas* in agranulocytic animals. *J. Infect. Dis.* **130** (S): S145-S148.
79. LINDSMITH, I. A., BAINES, R. D. W., BICHELOW, D. B. & PETTY, T. L. 1968. Reversible respiratory paralysis associated with Polymyxin therapy. *Ann. Intern. Med.* **68**: 318-327.
80. PERITI, P., LAMANNA, A. 1975. *Appunti di Chemioterapia Antimicrobica e Batteriologia Clinica*. La Giuntina Ed. Firenze.