

"POLIFEMO" (POLIMICROBIAL FAST EMOCOLTURE): UN NUOVO DATABASE PER L'IDENTIFICAZIONE DIRETTA DA EMOCOLTURE POLIMICROBICHE MEDIANTE SPETTROMETRIA DI MASSA MALDI-TOF

S. Paoletti¹, E. De Carolis¹, G. Spinelli¹, A. Vella¹, T. D'inzeo¹, T. Spanu¹, M. Sanguinetti¹

¹Istituto di microbiologia, Fondazione Policlinico A. Gemelli, UCSC, Roma

INTRODUZIONE

E' noto come le sepsi polimicrobiche siano associate ad un più alto rischio di complicazioni, e ad una più lunga durata della degenza e outcome peggiore, ciò anche in relazione alla difficoltà nell'identificazione dei patogeni responsabili dell'infezione dall'emocultura positiva che necessariamente si traduce in un ritardo nei tempi di somministrazione di una terapia efficace per il paziente rispetto a quelle monomicrobiche.

Attualmente è possibile utilizzare la spettrometria di massa MALDI-TOF per identificare direttamente da emocultura i patogeni coinvolti nell'infezione solo in caso di sepsi monomicrobiche; pertanto scopo dello studio è stato la creazione del database POLIFEMO (Polimicrobial Fast Emoculture) contenente profili di massa ricavati dall'esame diretto di flaconi simulati di emocolture contenenti due microrganismi corrispondenti alle associazioni di germi più comunemente riscontrate nella routine del nostro laboratorio, che utilizza giornalmente la metodica MALDI-TOF per l'identificazione diretta delle emocolture positive monomicrobiche. I profili di massa ottenuti dall'estrazione proteica dei patogeni presenti nei flaconi di emocolture polimicrobiche positive sono stati confrontati in tempo reale con il nuovo database.

METODI

Per la creazione degli MSP (Minimum Spectra Profile), 10⁴ CFU dalla combinazione di due sospensioni batteriche diverse comprendenti *Acinetobacter baumannii*, *Enterococcus* spp., *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Morganella morganii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, e *Staphylococcus* spp. sono state inoculate nel medesimo flacone BacT/ALERT. Una volta positivizzatesi, i flaconi sono stati processati mediante estrazione diretta dopo centrifugazione a 3500 rpm. Il pellet ottenuto è stato risospeso fino a 2 McF, centrifugato e sottoposto a due lavaggi in acqua, successivamente è stato deposto su una piastra MALDI con l'aggiunta di acido formico e matrice HCCA. Per la valutazione delle potenzialità del nuovo database, i profili di emocolture polimicrobiche reali, sono stati acquisiti automaticamente con uno spettrometro di massa Microflex LT (Bruker Daltonics, Germany) e confrontati con quelli creati mediante il software Biotyper 3.0.

RISULTATI

Il database "POLIFEMO", in continuo aggiornamento, allo stato attuale include 80 MSP creati dalle più frequenti associazioni polimicrobiche osservate nella pratica clinica del nostro laboratorio.

I profili ottenuti da 14 flaconi di emocolture polimicrobiche positive sono stati confrontati con il nuovo database, in tempo reale, fornendo la corretta associazione polimicrobica per 10/14 flaconi con score maggiori di 2.0 ed una sensibilità pari al 71.4%.

CONCLUSIONI

L'identificazione rapida dei microrganismi responsabili della sepsi risulta di fondamentale importanza nel ridurre la mortalità e i costi correlati ad una terapia inadeguata, in questa ottica, la possibilità di ottenere un'identificazione mediante spettrometria di massa pochi minuti dopo la positivizzazione dell'emocultura potrebbe costituire un importante passo avanti nella diagnostica delle sepsi polimicrobiche.