

ACCURATEZZA DELLA SPETTROMETRIA DI MASSA MALDI-TOF NELL'IDENTIFICAZIONE DI SPECIE DI LATTOBACILLI

C. Foschi¹, C. Parolin², B. Giordani², M. Compri¹, R. Cevenini¹, B. Vitali², A. Marangoni¹

¹DIMES, Università di Bologna, Bologna, Italia

²Dipartimento di Farmacia e Biotecnologie, Università di Bologna, Bologna, Italia

INTRODUZIONE

I lattobacilli rappresentano un vasto genere di batteri che colonizzano diverse sedi dell'organismo umano, dove svolgono un ruolo chiave nel mantenimento dell'omeostasi microbica. Sebbene il loro ruolo come microrganismi 'health-promoting' sia ben riconosciuto, la loro identificazione a livello di specie pone ancora numerose difficoltà e si basa sulla combinazione di differenti approcci.

Scopo del presente lavoro è stato quello di valutare l'accuratezza della spettrometria di massa MALDI-TOF per l'identificazione di specie di ceppi di lattobacilli, comparando tale metodica con il classico approccio basato sul sequenziamento del gene 16s rRNA.

METODI

Sono stati inclusi nello studio 40 ceppi di lattobacilli, isolati da campioni clinici (n=27), presenti in formulazioni di probiotici (n=8) o di origine alimentare (n=5). L'identificazione di specie è stata ottenuta mediante sequenziamento del gene 16s rRNA e il relativo albero filogenetico è stato costruito mediante software MEGA 6.

L'analisi spettrometrica è stata condotta sia direttamente da colonia batterica su terreno solido sia dopo estrazione proteica con acido formico/acetonitrile. I campioni sono stati analizzati con lo strumento Bruker MicroFlex MALDI-TOF MS e l'identificazione è stata ottenuta confrontando lo spettro proteico con il database di riferimento. Inoltre, a partire dallo spettro medio di ogni ceppo, è stato costruito un dendrogramma, tramite il software Biotyper 3.1.

RISULTATI

Il sequenziamento del gene 16s rRNA ha portato alle seguenti identificazioni: 7 *L. crispatus*, 7 *L. gasseri*, 5 *L. acidophilus*, 5 *L. delbrueckii*, 2 *L. vaginalis*, 2 *L. reuteri*, 6 *L. plantarum*, 1 *L. pentosus*, 2 *L. rhamnosus*, 2 *L. casei/paracasei* e 1 *L. brevis*. L'analisi MALDI-TOF ha evidenziato elevati score identificativi (score medio $\geq 1,9$) sia in caso di analisi diretta, sia dopo estrazione proteica. Tale approccio ha consentito di identificare correttamente a livello di specie tutti i ceppi di lattobacilli tranne uno (*L. pentosus* vs *L. plantarum*), con una percentuale di concordanza con il sequenziamento del 97,5%. A tale riguardo, la stretta relazione filogenetica fra le due specie spiega questo risultato. In alcuni casi, a differenza del sequenziamento, la spettrometria di massa ha addirittura consentito l'identificazione batterica a livello di sub-specie (es. *L. delbrueckii*).

Infine, il dendrogramma proteomico ha mostrato un'elevata sovrapponibilità con quello costruito mediante analisi genomica.

CONCLUSIONI

La spettrometria di massa MALDI-TOF si è dimostrata altamente affidabile nell'identificazione di specie di diversi lattobacilli, rappresentando un'ottima alternativa al sequenziamento genico, grazie alla sua rapidità e semplicità di utilizzo. Inoltre, potrebbe rappresentare un metodo innovativo per studi tassonomici dei lattobacilli.