

IMPIEGO DELLA TECNOLOGIA MALDI-TOF MS PER L'IDENTIFICAZIONE DI CEPPI PRODUTTORI DI CARBAPENEMASI KPC

V. Astone¹, S. Attene¹, A. Piras¹, M.A. Contu¹

¹Laboratorio di Patologia Clinica Sez. di Microbiologia ASL 3 di Nuoro

INTRODUZIONE

I programmi di sorveglianza attiva, finalizzati a prevenire la diffusione di batteri multi resistenti, con particolare attenzione ai ceppi produttori di carbapenemasi, sono ormai una necessità di tutti i Laboratori di Microbiologia. Questi devono individuare modalità tecnico-operative rapide ed efficaci ma anche sostenibili in termini di costi e carico di lavoro. Obiettivo del nostro studio è valutare la validità della spettrometria di massa (MS) MALDI-TOF della Bruker Daltonics, Bremen, Germany come test di screening per il controllo delle infezioni da batteri G- produttori di carbapenemasi KPC in sostituzione ai metodi tradizionali. Nella nostra comune pratica di laboratorio il test di screening per la ricerca di ceppi G- MDR viene effettuato con la coltura di tamponi rettali e faringei su piastre di Mac Conkey Agar dove viene deposto un dischetto di meropenem da 10µg. La lettura dei risultati dopo 18-24 ore permette di individuare le colonie sospette per la produzione di carbapenemasi (cresciute a meno di 30 mm dal dischetto). Tali colonie sono comunque sottoposte ad identificazione definitiva ed antibiogramma, che richiedono altre 18-24 ore. La tecnologia MALDI-TOF MS permette l'individuazione rapida di picchi caratteristici in termini di m/z. Il picco a 11109±15 Da associato alla proteina p019 espressa nei ceppi blaKPC-positivi è candidato ad essere il tratto distintivo dei ceppi produttori di KPC.

METODI

Per il nostro studio sono stati analizzati un totale di 58 isolati: 29 ceppi di *Klebsiella pneumoniae* KPC e 1 ceppo di *E. coli* KPC provenienti dagli ospedali di Cagliari, 10 ceppi di *K. pneumoniae* KPC provenienti dagli ospedali di Sassari, 3 ceppi di *Klebsiella pneumoniae* KPC più 15 ceppi di *K. pneumoniae* Wild-type (WT) provenienti dall'ospedale San Francesco di Nuoro isolati tra il 2013 e il 2016. I ceppi KPC hanno mostrato ridotta sensibilità ai carbapenemi, e sono stati caratterizzati con test fenotipici o con test molecolari, dai laboratori in cui sono stati isolati. I ceppi WT mostrano sensibilità a tutti gli antibiotici testati eccetto per quelli per i quali sono intrinsecamente resistenti. Successivamente, per tutti i ceppi testati, è stata effettuata l'analisi al MALDI-TOF MS (Bruker) per l'identificazione della p019 e la Real-time PCR per l'identificazione del gene blaKPC.

RISULTATI

I risultati con MALDI-TOF MS hanno evidenziato la presenza del picco a 11109±15 Da in tutti i ceppi di *K. pneumoniae* KPC e nel ceppo di *E. coli* KPC mentre il picco non è presente nei ceppi di *K. pneumoniae* WT testati. Il segnale di amplificazione della Real-time PCR per il gene blaKPC è stato rilevato in tutti i ceppi KPC-positivi mentre i ceppi WT sono risultati negativi.

CONCLUSIONI

Il MALDI-TOF MS è uno strumento semplice, rapido e poco costoso di ausilio all'identificazione precoce delle carbapenemasi KPC attraverso l'identificazione della proteina p019 utile a limitare la diffusione di tali ceppi MDR.