P073

Batteriologia

SVILUPPO E VALUTAZIONE DI UN PROTOCOLLO RAPIDO DI SPETTROMETRIA DI MASSA MALDI-TOF PER L'IDENTIFICAZIONE DI SPECIE E LA VALUTAZIONE DELLA PRODUZIONE DI β-LATTAMASI A SPETTRO ESTESO E CARBAPENEMASI DA EMOCOLTURE POSITIVE PER ENTEROBACTERIACEAE

G. Roncarati [1], S. Ambretti [1], M.C. Re [1]

[1]*U.O. Microbiologia, Policlinico S.Orsola-Malpighi, Bologna*

INTRODUZIONE

In Europa l'incidenza annuale di sepsi è di 3 casi per 1.000 abitanti, con un tasso di mortalità elevato. La diagnosi rapida e la somministrazione tempestiva di una terapia antimicrobica appropriata hanno mostrato ridurre in modo significativo la mortalità. L'incremento però di ceppi resistenti agli antibiotici, soprattutto in Enterobacteriacae, sta determinando un importante problema per il trattamento dei pazienti.
Lo scopo di questo lavoro è stato quello di mettere a punto un metodo di identificazione rapida dei microrganismi responsabili della batteriemia e di rilevazione di eventuali meccanismi di resistenza ai β-lattamici mediante spettrometria di massa MALDI-TOF.

METODI

Da settembre a dicembre 2016 tutti i flaconi positivi nei quali veniva rilevata alla colorazione di Gram la presenza di bacilli Gram-negativi, venivano selezionati e identificati direttamente tramite MALDI-TOF MS (Bruker Daltonics). Sempre nella stessa seduta veniva svolto il saggio di idrolisi del cefotaxime e dell'ertapenem per la rilevazione rapida rispettivamente di β-lattamasi a spettro esteso (ESβL) e carbapenemasi. L'acquisizione ed analisi degli spettri è stata eseguita mediante MALDI-TOF MS (Bruker Daltonics).
I risultati delle identificazioni sono stati in seguito confrontati con quelli ottenuti dalla subcoltura del flusso di lavoro routinario. Per i saggi di idrolisi, invece, oltre alla MIC acquisita con il sistema VITEK 2, per confermare le caratteristiche fenotipiche sono stati utilizzati due test di conferma manuali: il test del doppio disco per l'identificazione di ESβL e il test di sinergia in disco-diffusione per la rilevazione delle carbapenemasi. Per poter valutare invece le tempistiche di refertazione, il nuovo flusso di lavoro è stato confrontato con quello in essere.

RISULTATI

Sono stati analizzati 185 campioni provenienti da differenti pazienti. Il metodo proposto è stato in grado di fornire l'identificazione dell'agente eziologico in 35 minuti dalla positivizzazione dell'emocoltura con una concordanza del 95,9% rispetto alla subcoltura utilizzata in routine. Per quanto riguarda, invece, la rilevazione di meccanismi di resistenza ha permesso di rilevare un'attività idrolitica alle cefalosporine di III generazione nel 100% dei ceppi produttori di ESβL, mentre per i carbapenemi il saggio ha riportato una sensibilità del 98,1% e una specificità del 98,5%.

CONCLUSIONI

Il protocollo sviluppato e analizzato in questo studio permette di fornire al clinico in circa 3 ore un'identificazione di specie affidabile e un dato rilevante di sensibilità ai β-lattamici, interpretabile come antibiogramma preliminare. L'anticipo in termini di tempo di refertazione e il relativo potenziale impatto su stewardship antibiotica e infection control è significativo e risulta ancora più evidente in caso di emocolture per le quali, con il flusso di lavoro routinario, non sia possibile fornire un antibiogramma completo entro 24 ore dall'identificazione dell'agente eziologico (es. campioni polimicrobici).