P059

Batteriologia

POTENZIALE ALGORITMO DIAGNOSTICO DELLE INFEZIONI DA MICOBATTERI A RAPIDA CRESCITA ISOLATI DA MATERIALI RESPIRATORI E DA EMOCOLTURE PRESSO IL LABORATORIO DI MICROBIOLOGIA DI LUCCA

E. Parisio [1], G. Camarlinghi [1], M. Nardone [1], R. Mattei [1]
[1]*S.C. Analisi Chimico Cliniche Ospedale San Luca Lucca*

INTRODUZIONE

I micobatteri a "rapida cerscita" sono per definizione micobatteri in grado di produrre entro 7 giorni dalla semina su terreno solido una crescita ben visibile. La loro identificazione è resa problematica dalla notevole espansione della tassonomia ma riveste comunque un'importanza clinica notevole poichè le varie specie differiscono per pattern di sensibilità ai farmaci e virulenza. Sono oltre 20 le specie di micobatteri atipici a "rapida crescita" in grado di sostenere infezioni in pazienti sia immunocompetenti che immunodepressi. Le infezioni più comuni sono di tipo polmonare, ma sono descritti anche casi di infezioni del torrente circolatorio e catetere-correlate. Scopo del seguente lavoro è proporre un algoritmo per l'identificazione dei micobatteri a rapida crescita a partire da terreni liquidi e mediante la tecnologia MALDI-TOF MS.

METODI

Lo studio è stato condotto a partire da 2 campioni di sangue e 4 campioni respiratori. I campioni di sangue sono pervenuti in flaconi da emocoltura per germi aerobi e anaerobi BacT/ALERT (bioMérieux) ed incubati nel sistema BacT/ALERT VIRTUO (bioMérieux), mentre gli altri materiali sono stati processati come di consueto per la ricerca di micobatteri e inoculati in terreno liquido MGIT (Becton Dickinson). I due flaconi aerobi positivizzati dopo 4 giorni sono stati seminati su terreni per l'isolamento in coltura pura (agar sangue, agar cioccolato, agar MacConkey, Brilliance Candida agar). Gli MGIT dei campioni respiratori, positivizzati dopo 4 giorni, sono risultati positivi per la presenza di bacilli alcool-acido resistenti: per questo ciascun MGIT è stato concentrato mediante centrifugazione a 14.000 rpm per 10 minuti per ricavarne il pellet. L'identificazione dei micobatteri è stata condotta direttamente dalle colonie cresciute su agar sangue e dal pellet ricavato dagli MGIT mediante MALDI-TOF MS (Biomerieux) dopo trattamento di estrazione ed inattivazione con il kit VITEK MS MYCOBACTERIUM/NOCARDIA (Biomerieux). I risultati ottenuti sono stati confrontati con quelli ottenuti tramite genotipizzazione
con il kit Geno Type Mycobacterium CM/AS (HAIN Lifescience) dopo subcoltura in terreno
Middlebrook 7H11 (Becton Dickinson).

RISULTATI

Dalla sub-coltura dei flaconi aerobi BacT/ALERT sono state isolate delle colonie piccole e biancastre che al microscopio apparivano filiformi debolmente gram-positive alla colorazione di Gram e come bacilli alcool-acido resistenti alla Kinyoun. Le colonie sono state identificate come Mycobacterium mucogenicum. I campioni respiratori sono risultati negativi per la ricerca di bacilli alcool-acido resistenti, mentre l'analisi dei pellet da ciascun MGIT ha permesso di identificare le specie Mycobacterium mucogenicum, Mycobacterium fortuitum e Mycobacterium abscessus. Tutti i micobatteri identificati sono stati seminati su terreno Middlebrook 7H11. Le colonie sviluppate dopo 4 giorni sono state identificate mediante genotipizzazione confermando i risultati ottenuti con l'identificazione rapida.

CONCLUSIONI

L'identificazione dei micobatteri a rapida crescita può essere eseguita direttamente da terreno liquido MGIT e dalle colonie cresciute in terreno solido senza l'ausilio di tecniche molecolari che sono costose, dispendiose e non sempre praticabili nei laboratori di routine microbiologica. La positività dei materiali respiratori e delle emocolture è stata refertata dopo soli 4 giorni dall'arrivo dei campioni.