P110

Infezioni ospedaliere

OUTBREAK DA SERRATIA MARCESCENS RIVELATO TRAMITE ANALISI FILOPROTEOMICA MALDI TOF MS

C. Giordano [1], E. Piccoli [1], V. Brucculeri [1], S. Barnini [1]
[1]*SD Batteriologia, Azienda Ospedaliero-Universitaria Pisana, Pisa*

INTRODUZIONE

Serratia marcescens è un batterio ampiamente diffuso nell'ambiente e come patogeno opportunista è coinvolto in gravi infezioni nosocomiali. Può sopravvivere su superfici inanimate e in soluzioni di clorexidina al 2% per mesi, dando origine ad outbreak difficili da eradicare. Le tecniche molecolari convenzionali per rilevare le relazioni epidemiologiche tra gli isolati prevedono metodi spesso lunghi e laboriosi, come la pulsed-field gel electrophoresis. In questo studio proponiamo un approccio rapido ed innovativo, basato sull'analisi del profilo proteomico dei microrganismi e rappresentato da dendrogrammi costruiti sui profili degli spettri di massa (MSP).

METODI

Le colonie sospette, isolate da emocolture e da altri campioni biologici di cinque pazienti ricoverati in un reparto di Anestesia e Rianimazione dell'Azienda Ospedaliero-Universitaria Pisana, sono state identificate utilizzando il MALDI-TOF MS (Bruker Daltonics). Per l'analisi degli MSP è stata effettuata un'estrazione proteica. Nel dettaglio, è stata preparata una sospensione 3 McFarland, da cui è stato ricavato un pellet batterico risospeso in etanolo al 75%. Il campione è stato centrifugato e il surnatante scartato. Il pellet è stato risospeso in 50 µl di acido formico al 70% e in 50 µl di acetonitrile, vortexando per 1 min. L'estratto proteico è stato infine centrifugato e 1 µl di surnatante è stato depositato sulla piastra metallica del MALDI TOF MS, ricoperto da 1 µl di matrice HCCA. Gli spettri di massa sono stati corretti utilizzando i software FlexAnalysis 3.3 e MALDI Biotyper 3.0. Successivamente i picchi m/z sono stati analizzati in diversi intervalli di massa e comparati gli uni con gli altri. L'analisi delle componenti principali (PCA), la distribuzione dei picchi m/z e le relazioni tra gli MSP sono state evidenziate tramite il software ClinProTools 3.0.

RISULTATI

Per ognuno dei ceppi analizzati e per il ceppo di controllo sono stati ricavati 4 spettri di massa, per un totale di 24 MSP. Le ripetizioni dello stesso ceppo si presentavano omogenee, come mostrato tramite ClinProTools 3.0 nell'analisi di Gel View. La distribuzione dei picchi di 3 pazienti formava un cluster ben distinto dal quarto e dal quinto paziente e dal ceppo di controllo, visualizzato anche tramite PCA. Questi dati sono stati confermati dalla costruzione di un dendrogramma basato sull'ordinamento di Pareto.

CONCLUSIONI

Stabilire le relazioni filogenetiche tra i microrganismi responsabili di un outbreak è fondamentale per contenerne la diffusione e soprattutto per individuare la sorgente dell'infezione. La nostra indagine ha permesso di individuare in 24 ore la presenza dello stesso ceppo di S. marcescens in tre pazienti. Le analisi filoproteomiche tramite MALDI TOF MS presentano degli enormi vantaggi in termini di costi e di tempo, fornendo risultati rapidi e accurati, che possono essere confermati successivamente da analisi filogenetiche convenzionali.