

**IDENTIFICAZIONE RAPIDA IN ROUTINE DI BATTERI GRAM POSITIVI E GRAM NEGATIVI DA FLACONE DI EMOCOLTURA POSITIVA**V. Brucculeri<sup>1</sup>, L. Lelli<sup>1</sup>, S. Lico<sup>1</sup>, S. Casarosa<sup>1</sup>, F. Pasqualetti<sup>1</sup>, L. Micio<sup>1</sup>, S. Barnini<sup>1</sup><sup>1</sup>U.O. Microbiologia Univ., Azienda Ospedaliero-Universitaria Pisana, Pisa**INTRODUZIONE**

L'emocoltura, gold standard per la diagnosi di batteriemia, ha tempi di esecuzione piuttosto lunghi, almeno 24 ore dalla positività del flacone. Diversi i metodi disponibili, negli ultimi anni, per l'identificazione (ID) diretta dei batteri dal flacone positivo, soprattutto efficaci per Gram negativi. Scopo di questo lavoro è valutare l'introduzione nella routine del Laboratorio di un metodo per ID rapida di batteri Gram negativi (G-) e Gram positivi (G+) mediante spettrometria di massa MALDI/TOF e confrontare i dati ottenuti con i risultati del metodo colturale tradizionale.

**METODI**

L'ID rapida da flacone è stata effettuata mediante MALDI/TOF su 136 emocolture positive, 79 contenenti G- e 57 G+; al Gram, tutte apparivano monomicrobiche. Una provetta con gel separatore consentiva il recupero dei batteri dalla emocoltura, risospesi poi in 1 ml di acqua distillata sterile (1 McF per i G- e 3.5 McF per i G+) e di nuovo centrifugati; il nuovo pellet era deposto sul supporto per MALDI/TOF. Per i G-: al pellet asciutto era aggiunto 1 µl di matrice HCCA; per i G+ si eseguiva anche estrazione con 0.6 µl di etanolo assoluto, 0.6 µl di acido formico al 70% e 0.6 µl di acetonitrile. L'ID mediante MALDI/TOF forniva risultati la cui attendibilità era espressa in valori di score negli intervalli: 2.300-3.000 (S1: elevata probabilità di ID di specie), 2.000-2.299 (S2: ID sicura a livello di genere, probabile a livello di specie), 1.700-1.999 (S3: probabile ID di genere), <1.699 (S4: ID non affidabile). Si è eseguita parallelamente l'ID da colonia isolata con il metodo colturale tradizionale.

**RISULTATI**

Dei 79 campioni contenenti batteri G-, 75 (94.9%) sono stati identificati con una concordanza a livello di specie del 100%, con il metodo colturale tradizionale. Tra questi il 33.3% hanno dato risultati di score in S1, 46.7% in S2, 18.7% in S3 e l'1.3% in S4; il 13.3% è risultato polimicrobico ed è stato identificato correttamente solo uno dei microrganismi. Per 4 campioni l'ID non è stata affidabile. Dei 57 campioni contenenti batteri G+, 45 (79%) sono stati identificati con una concordanza a livello di genere del 100% e del 95.6% a livello di specie. Due campioni identificati come *Poenibacillus glucanolyticus* e *Staphilococcus hominis* sono risultati da coltura come *Poenibacillus amilolyticus* e *Staphilococcus aureus*. Dei campioni identificati correttamente a livello di specie il 2.3% era in S1, il 37.3% in S2, il 27.9% in S3 e il 32.6% in S4. Un solo campione è risultato polimicrobico ed è stato identificato un solo microrganismo. Per 7 campioni l'ID non è stata affidabile e per 5 è fallita.

**CONCLUSIONI**

Il nostro protocollo ha permesso l'introduzione in routine della ID rapida da emocoltura positiva non solo per i G- ma anche per i G+. Inoltre, sebbene gli score per i G+ siano mediamente inferiori a quelli dei G-, l'ID è stata corretta anche per quei campioni con score <1.7 (da 1.697 a 1.100) con una concordanza del 100% a livello di specie. Questo fa supporre che il livello di accettabilità possa scendere al di sotto di 1.700 senza compromettere l'accuratezza del dato, anche se saranno necessari ulteriori e più ampi studi per confermare l'ipotesi.