

IDENTIFICAZIONE DI MICOBATTERI NON TUBERCOLARI (MNT) CON SPETTROMETRIA DI MASSA MALDI-TOF

T. Brunelli¹, P. Casprini¹, A. Conti¹, R. Degl'innocenti¹, L. Ortega De Luna¹, M. Sosa¹

¹*Laboratorio Analisi Chimico Cliniche e Microbiologia, Nuovo Ospedale Santo Stefano, USL4 Prato*

INTRODUZIONE

L'identificazione dei micobatteri è di fondamentale importanza a fini sia diagnostici che epidemiologici. Quest'attività presenta delle difficoltà dovute sia alla particolare struttura della parete dei micobatteri sia alla loro patogenicità e alla conseguente necessità di renderli inattivi.

In questo lavoro è descritta la preparazione dei campioni di MNT da sospensione batterica in terreno di coltura liquido e la loro identificazione mediante spettrometria di massa MALDI-TOF.

METODI

Sono stati identificati 15 ceppi di MNT da coltura liquida (MGIT, Becton Dickinson, USA). Il pellet ottenuto dopo centrifugazione di 1,5 ml di sospensione batterica in terreno di coltura è stato distrutto con l'uso di microsfere di vetro di diametro 0.5 mm (Sigma-Aldrich, USA) agitate nello strumento Tissue Lyser (Qiagen, USA) e quindi incubato per 10 minuti a temperatura ambiente. Dopo centrifugazione ed eliminazione del sovrantante il pellet è stato risospeso in acido formico e acetonitrile. Dopo ulteriore centrifugazione 1 microlitro di sovrantante è stato deposto sulla "target plate" dello spettrometro di massa e analizzato, previa aggiunta di matrice CHCA. L'identificazione è stata eseguita con lo spettrometro di massa VitekMS (Biomérieux, Francia).

I risultati sono stati valutati riferendosi alle identificazioni eseguite dal Centro di Riferimento Regionale (Regione Toscana) per la diagnosi dei micobatteri utilizzando il kit Inno-Lipa TB (Nuclear Laser Medicine, Italia).

RISULTATI

I ceppi identificati appartenevano a specie differenti: *M.gordonae*, *M.chelonae*, *M.avium*, *M.intracellulare*, *M.peregrinum*, *M.fortuitum*, *M.mucogenicum*, *M.xenopi*. Tutti i ceppi di MNT sono stati identificati allo spettrometro di massa con una confidenza superiore al 95%. La concordanza con il metodo Inno-Lipa era del 100%.

CONCLUSIONI

La spettrometria di massa MALDI-TOF è un metodo utile per l'identificazione di MNT. L'applicazione di questa metodica presenta numerosi vantaggi, primo dei quali la poca dispendiosità dei reagenti seguito dalla possibilità di processare, all'occorrenza, anche un singolo campione.