P179

MICOLOGIA

IDENTIFICAZIONE DIRETTA DI LIEVITI DA EMOCOLTURE POSITIVE CON METODICA SEPSITYPER

A. Zignoli [2], M. Cordovana [2], M. Cricca [1], S. Ambretti [2]
[1]*DIMES, Alma Mater Studiorum, Università di Bologna, Bologna*
[2]*U.O. Microbiologia, A.O.U. Policlinico Sant'Orsola Malpighi, Bologna*

INTRODUZIONE

Le sepsi da miceti lievitiformi si riscontrano prevalentemente in pazienti immunocompromessi o portatori di device intravascolari, e sono gravate da un alto tasso di mortalità. La rapida identificazione di specie riveste un'importanza cruciale per l'adozione della terapia antimicrobica adeguata, date le resistenze intrinseche ad alcuni antimicotici di alcune specie di lieviti. In questo studio è stata valutata la performance della metodica Sepsityper per l'identificazione mediante MALDI-TOF MS dei lieviti direttamente dal flacone di emocoltura positiva.

METODI

25 campioni (corrispondenti a n=16 pazienti) positivi alla colorazione di Gram per la presenza di blastospore di lievito, raccolti dal 1° al 31 agosto 2019 sono stati utilizzati per testare il kit Sepsityper (Bruker Daltonik). I risultati sono stati confrontati con l'identificazione da subcoltura in piastra, e con la valutazione semiquantitativa al vetrino Gram della carica microbica nel flacone positivo.
1 ml di brodocoltura è stato prelevato per estrarre il pellet microbico, mediante aggiunta di lysis buffer e lavaggio con washing buffer. La biomassa così ottenuta è stato spottata sul target MALDI per l'identificazione diretta (protocollo Rapid Sepsityper). In caso di identificazione non riuscita, lo stesso pellet è stato utilizzato per l'identificazione dopo estrazione con etanolo/acido formico (protocollo classico Sepsityper). Nei casi di mancata identificazione anche dopo estrazione, la procedura è stata ripetuta utilizzando un volume iniziale maggiore (2 ml in 3 casi, 3 ml in 1 caso).

RISULTATI

Per 22/25 campioni il protocollo rapido ha consentito un'identificazione affidabile. 2/3 dei rimanenti campioni sono stati identificati dopo aggiunta dello step di estrazione, mentre per 1 non è stato possibile ottenere nessun risultato (isolato poi identificato come C. albicans). La specie più comunemente isolata è stata C. albicans (n=14), seguita da C. parapsilosis (n=4), S. cerevisiae (n=2), C. glabrata, C. tropicalis, C. metapsilosis e T. asahii (n=1). L'identificazione da subcoltura ha sempre confermato il risultato del Sepsityper.

CONCLUSIONI

La metodica Sepsityper ha rivelato un'eccellente efficacia per l'identificazione dei lieviti direttamente dai flaconi di emocoltura positiva, sia con il protocollo rapido (22/25 campioni identificati) che con quello classico (24/25). Le mancate identificazioni sono risultate correlate con uno scarso volume di pellet microbico estratto dal campione iniziale, a sua volta correlato con una bassa densità di blastospore osservata microscopicamente. Una modifica del volume di campione iniziale ha consentito di ottenere risultati soddisfacenti anche per 3 su 4 di tali campioni. Il tempo medio necessario per l'identificazione è stato di 30-40 minuti, contro le 18-24 h richieste dall'identificazione da subcoltura.