P077

BATTERIOLOGIA

IDENTIFICAZIONE RAPIDA DI MICOBATTERI NON TUBERCOLARI MEDIANTE LA SPETTROMETRIA DI MASSA MALDI-TOF

E. Oliva [1], A.R. Cerro [1], M. Cuntrò [1], F. Vailati [1], M. Arosio [1], C. Farina [1]
[1]*UOC Microbiologia e Virologia, ASST Papa Giovanni XXIII, Bergamo*

INTRODUZIONE

La prevalenza delle infezioni da micobatteri non tubercolari (NTM) è in crescita non solo in pazienti HIV positivi, ma anche in pazienti HIV negativi che presentano una malattia polmonare di base. Ad oggi, la spettrometria di massa MALDI-TOF è una tecnologia efficiente per l'identificazione dei microrganismi. Scopo di questo studio è stato quello di pervenire rapidamente all'identificazione accurata di NTM da terreno liquido MGIT utilizzando il kit VITEK-MS® MYCOBACTERIUM/NOCARDIA (bioMérieux) evitando i lunghi tempi di attesa della crescita su terreno solido e l'utilizzo della tecnologia del sequenziamento genico, molto costosa e poco specifica per l'identificazione di NTM a rapida crescita.

METODI

Lo studio è stato suddiviso in due fasi: preliminare e prospettica. Nella prima sono stati utilizzati 42 ceppi di Mycobacterium spp., già identificati mediante sequenziamento. Nella seconda fase (svolta direttamente da campione clinico positivo, senza sottocultura) sono stati saggiati 34 campioni ottenuti da 27 pazienti. La metodica prevede la centrifugazione - per 10 minuti a 13.000 rpm - di2 mL di brodo MGIT e la successiva eliminazione del surnatante. Al pellet vengono aggiunti 500μL di acqua sterile, cui fanno seguito la centrifugazione per 5 minuti a 13.000 rpm e l'aggiunta al precipitato di500 μL di etanolo.Dopo il trasferimento dei campioni in provette contenenti microsfere ed il trattamento al vortex per 15 minuti,sono lasciati in verticale per 10 minuti.Dopo il trasferimento dei campioni in nuove provette, fanno seguito una centrifugazione per 2 minuti a 13.000 rpm,l'aggiunta di 10 μL di acido formico ed un'ulteriore aggiunta al precipitato di 10μL di acetonitrile, conclusa da un'ultima centrifugazione per 2 minuti a 13.000 rpm. Infine, si deposita 1μL di surnatante sulla slide MALDI-TOF.

RISULTATI

41/42 specie (fase preliminare) e 33/34 (fase prospettica) sono state correttamente identificate operando direttamente da MGIT. Sebbene lo strumento non disponga dello spettro di M. chimaera, il sistema MALDI-TOF MS associa a quest'ultimo l'identificativo di M. intracellulare. Il sistema è in grado di discriminare tra M. chelonae e M. abscessus avendo inclusi nel suo database gli spettri separati dei due microrganismi, contrariamente a quanto è possibile ancora con il sequenziamento genico. Tuttavia, sia da sottocultura che direttamente da campione, la tecnologia MALDI-TOF non è in grado di discriminare tra le varie specie appartenenti al complesso M. fortuitum.

CONCLUSIONI

Grazie a questa valutazione è stato dimostrato che il sistema MALDI-TOF MS è un metodo affidabile per l'identificazione di NTM operando direttamente da MGIT senza sottocultura. È stato proposto un metodo più efficace per l'estrazione delle proteine micobatteriche, modificato rispetto a quello proposto dal fornitore partendo da terreno solido.