P075

BATTERIOLOGIA

IDENTIFICAZIONE DIRETTA DI MICROORGANISMI DA EMOCOLTURE POSITIVE CON SISTEMA MALDI-TOF: LA NOSTRA ESPERIENZA

L. Spinelli [1], L. Nicola [1], M. Barazzetta [1], L. Del Giudice [1], D. Melotti [1]
[1]*Laboratorio Microbiologia, PO Cernusco s/N - ASST Melegnano e Martesana*

INTRODUZIONE

L'identificazione rapida e l'antibiogramma di microrganismi responsabili delle infezioni del torrente circolatorio sono essenziali per intraprendere una corretta terapia antibiotica, con noti benefici sia per il paziente che economici. In attesa di tali dati, viene somministrata una terapia antibiotica empirica eventualmente modificabile in base ai risultati di laboratorio.
Sebbene la coltura rimanga il metodo di elezione per la diagnosi di infezioni ematiche, metodiche di nuova concezione possono significativamente abbreviare i tempi di risposta, migliorando così in modo sostanziale l'outcome diagnostico.
Lo scopo del nostro studio è stato valutare la corrispondenza tra l'identificazione delle colonie cresciute su piastre di agar dopo semina, con quella eseguita direttamente dal flacone risultato positivo.

METODI

Sono stati presi in considerazione 306 flaconi segnalati come positivi dagli incubatori (Bactec BD). Un'aliquota di brodocoltura di sangue è stata seminata su piastre di agar, incubate poi a 35-37 °C per 18-24 ore. Con un'altra goccia di campione è stato allestito un vetrino per la colorazione di Gram, e un ultimo campione è stato utilizzato per procedere all'identificazione del microrganismo presente con il sistema MALDI-TOF utilizzando la seguente metodica: 5.0 ml di sangue venivano centrifugati a 3000 rpm per 10 minuti; Il pellet ottenuto dopo rimozione del surnatante veniva lavato con acqua e quindi centrifugato. Al termine, il sedimento veniva miscelato con 50 μl di acido formico e 50 μl di acetonitrile e nuovamente centrifugato: 1.0 μl di surnatante veniva depositato sulla piastra per l'analisi in spettrometria di massa (MALDI Byotyper, Bruker).

RISULTATI

Dei campioni analizzati, 123 sono risultati positivi alla coltura per flora batterica gram negativa, 184 per flora gram positiva e 2 per lieviti. Per il 79.6% dei microorganismi isolati si è ottenuta una corrispondenza a livello di specie, dato che aumenta al 81,9% se relazionata al genere. In un solo campione si è rilevato un errore di identificazione, mentre in 55 casi (17,8%) lo spettro di massa ottenuto non raggiungeva un sufficiente grado di attendibilità.
Il sistema appare ben performante nell'identificazione di microorganismi gram negativi (92,7% di correlazione con la coltura, con un solo campione identificato solo come genere); si evidenziano, al contrario, alcune difficoltà per i gram positivi, con corrispondenza nel 71,2% dei casi: tale dato appare più significativo se relazionato agli stafilococchi (corretta identificazione di genere nel 70.5% e di specie nel 67,4% dei casi), meno per gli streptococchi (80,4% e 82.5% rispettivamente).

CONCLUSIONI

MALDI-TOF è un metodo efficace per l'identificazione diretta da flacone di emocolture di batteri gram negativi e di streptococchi e può sostituire la classica identificazione da colonia.