P180

MICOLOGIA

IDENTIFICAZIONE RAPIDA DI ASPERGILLUS SPP MEDIANTE MALDI-TOF MS

A. Mosca [1], G. Carone [1], A. De Robertis [1], F. Romanelli [1], G. Miragliotta [1], R. Del Prete [1]
[1]*Dipartimento Interdisciplinare di Medicina, Università degli Studi di Bari, P.zza G. Cesare, 70124 Bari.*

INTRODUZIONE

L'aspergillosi è un'infezione opportunistica caratterizzata da elevata morbidità e mortalità soprattutto nei pazienti gravemente immunocompromessi. Per un efficace approccio terapeutico è importante l'identificazione di specie che tiene conto di eventuali resistenze. I metodi tradizionali che sfruttano le caratteristiche sia microscopiche che macroscopiche richiedono tempi lunghi e personale esperto mentre quelli molecolari non sempre sono accessibili. Il MALDI-TOF MS rappresenta un metodo accurato e rapido per l'identificazione di batteri e miceti mentre per quanto riguarda l'identificazione dei funghi filamentosi la metodica presenta alcune variabili quali il tempo di incubazione e l'estrazione delle proteine ribosomiali. Lo scopo del lavoro è stato utilizzare il sistema MALTI-TOF MS per identificare le muffe isolate da campioni respiratori di pazienti ricoverati presso l'azienda Ospedaliero-Universitaria, Policlinico di Bari, dopo 48 h di incubazione e con il metodo di estrazione diretta.

METODI

Sono state isolate su Sabouraud agar (bioMerieux) 35 muffe, identificate dopo 48 h di incubazione a 37 °C con il sistema VITEK MS versione 3.0 (bioMerieux) utilizzando il metodo diretto di estrazione. E' stata utilizzata un'ansa precedentemente immersa in soluzione fisiologica per prelevare un'aliquota dal centro della colonia; tale aliquota è stata deposta direttamente sullo spot della piastrina ed immediatamente aggiunto 0,5µl di acido formico e poi 1µl di matrice (acido alfa-ciano-4-idrossiciannaminico). Una volta asciugata, la piastrina è stata inserita nello strumento per la lettura. Contemporaneamente si è proceduto con l'identificazione tradizionale.

RISULTATI

Tutte le muffe isolate appartengono al genere Aspergillus, in particolare: A. fumigatus (27 ceppi), A. terreus (4 ceppi), A. flavus (2 ceppi), A. lentulus (1 ceppo), A. nidulans (1 ceppo). Le stesse sono state identificate dal MALDI-TOF MS dopo 48 ore di crescita ad eccezione di A. lentulus (72 ore). La preparazione del campione richiede circa 10 minuti e non necessita di personale esperto mentre la lettura della piastrina meno di 15 minuti.

CONCLUSIONI

A. fumigatus è la specie maggiormente isolata e l'utilizzo del sistema MALDI-TOF MS permette l'identificazione dopo 48 ore d'incubazione con un tempo di esecuzione di circa 1 ora. In particolare abbiamo notato che il numero di colonie cresciute su terreno di coltura influenza il tempo d'identificazione di A. fumigatus per cui in alcuni casi l'identificazione è stata ottenuta dopo 24 ore d'incubazione.