P014

BATTERIOLOGIA

ALLESTIMENTO DI UNA LIBRERIA MALDI-TOF PER L'IDENTIFICAZIONE DEI MICOBATTERI NON TUBERCOLARI

J. Bagnarino [2], D. Barbarini [3], V. Monzillo [3], A. Piralla [3], G. Russello [1], P. Marone [3]

[1]*S.O.C. Microbiologia, IRCCS Arcispedale Santa Maria Nuova, Reggio Emilia*

[2]*Scuola di Specializzazione in Microbiologia e Virologia, Università degli Studi di Pavia, Pavia*

[3]*U.O.C. Microbiologia e Virologia, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia*

INTRODUZIONE

I micobatteri non tubercolari (MNT) sono microrganismi ubiquitari, possono essere isolati dalle acque e dal suolo e sono in grado di causare infezioni nei diversi tessuti soprattutto in pazienti immunocompromessi. Attualmente sono note più di 160 specie tra cui alcune particolarmente patogene per l'uomo e per le quali una tempestiva e corretta identificazione consente un approccio terapeutico appropriato e specie specifico. Per l'identificazione le metodiche molecolari, basate sull'utilizzo di sonde a DNA o sul sequenziamento genico, sono considerate il gold standard. Negli ultimi anni la spettrometria di massa MALDI-TOF già utilizzata per l'identificazione di batteri e lieviti, è stata anche applicata per l'identificazione dei MNT. In questo lavoro viene descritto lo sviluppo di una libreria per i MNT sullo strumento MALDI-TOF Bruker per una identificazione più rapida, accurata e meno costosa dal momento che le tecniche molecolari sono particolarmente complesse e non sono disponibili in tutti i laboratori.
Inoltre è stata valutata la sua performance d'identificazione su isolati clinici.

METODI

Il database è stato costruito sullo strumento MALDI-TOF Bruker analizzando 16-32 replicati di 27 specie precedentemente identificate con Hain Genotype Mycobacterium CM/ASTM (GT-CM/AS) e NTM-DR. Per l'estrazione è stato utilizzato il metodo proposto dalla Bruker con alcune modifiche di temperature e aggiunte di step di lisi meccanica. La validazione è stata condotta analizzando con il nuovo database i 18 ceppi di MNT (3 M.abscessus, 6 M.avium, 1 M.chelonae, 1 M.chimaera, 3 M.gordonae, 3 M.intracellulare, 1 M.kansaii) isolati a partire da Gennaio 2019.

RISULTATI

Gli spettri ottenuti di tutte le specie di MNT analizzate per la costruzione della libreria sono stati caratterizzati da valori di score variabili (1.7-2.5) che tendevano ad aumentare con l'implementazione del numero di isolati inseriti. 14 dei 18 ceppi sono stati identificati correttamente con uno score ≥ 2 e sono risultati concordi con l'identificazione ottenuta mediante GT-CM/AS in uso nella routine. Gli isolati di M. intracellulare e M. chimaera, avendo profili molto simili anche se con uno score ≥ 2, non possono essere correttamente distinti.

CONCLUSIONI

La libreria ottenuta ha permesso di identificare gli stipiti fino ad ora analizzati con una buona performance e in accordo con le metodiche molecolari di riferimento fornendo un'alternativa identificativa più rapida e meno costosa. Specie strettamente correlate, quali ad esempio M.intracellulare e M.chimaera non possono essere distinte solo dall'indice di similarità degli spettri ma potrebbero richiedere analisi più approfondite sulla presenza/assenza di picchi specie specifici.