

KPC SUBTYPING MEDIANTE MALDI-TOF MS: DA KLEBSIELLA PNEUMONIAE AGLI ALTRI ENTEROBATTERI

M. Cordovana³, A.B. Pranada², J. Glandorf¹, M. Bienia², S. Ambretti³, M. Kostrzewa¹

¹Bruker Daltonik GmbH, Bremen (DE)

²MVZ Dr. Eberhard & Partner Dortmund - Laboratory of Medical Microbiology, Dortmund (DE)

³U.O. Microbiologia - Policlinico Sant'Orsola-Malpighi, Bologna

INTRODUZIONE

Gli enterobatteri produttori di carbapenemasi sono un problema di salute pubblica a livello mondiale.

Una nuova applicazione del sistema MALDI Biotyper (Bruker Daltonik) consente l'identificazione di *K. pneumoniae* produttrice di KPC (KPC-Kp) in tempo reale durante l'identificazione di specie, mediante la rilevazione automatica nello spettro di massa batterico di un picco specifico a 11109 m/z, correlato al plasmide pKpQIL che contiene blaKPC.

In questo studio abbiamo valutato i risultati dell'introduzione in routine dell'identificazione di KPC-Kp mediante MALDI subtyping, e la possibilità di estendere questo metodo alle altre specie di enterobatteri, sviluppando e testando degli specifici algoritmi adatti all'implementazione nel sistema MALDI Biotyper.

METODI

N=684 ceppi di *K. pneumoniae* sono stati identificati e contemporaneamente sottotipizzati per la presenza del picco KPC-specifico mediante MALDI Biotyper. I risultati sono stati confrontati con i risultati dei test di suscettibilità agli antibiotici di routine, ed eventualmente dei test di conferma della produzione di carbapenemasi (test di sinergia con inibitori, test immunocromatografici).

Gli spettri MALDI di n=8801 isolati di enterobatteri con diversi profili di resistenza ai carbapenemi (n=3502 *E. coli*, n=2663 *Enterobacter* spp., n=1460 *K. oxytoca*, n=639 *Citrobacter* spp. and n=537 *S. marcescens*) sono stati investigati per la presenza del picco KPC-specifico, utilizzando per ogni specie uno specifico algoritmo appositamente sviluppato.

RISULTATI

In totale, n=371/684 (53,4%) ceppi sono stati identificati come "*K. pneumoniae* presumptive KPC". N=289 isolati sono risultati negativi sia al MALDI sia alle metodiche di riferimento. N=24 ceppi classificati come "non-KPC" sono risultati KPC+ al test di conferma fenotipico, quindi la sensibilità del subtyping mediante MALDI è risultata del 94% (371/395). Tra le emocolture, la sensibilità del subtyping è risultata del 95,7% (44/46).

Il picco KPC-specifico è stato rilevato in 126/146 (86,3%) *E. coli*, 5/5 (100%) *E. cloacae* complex, 9/11 (81,8%) *E. aerogenes*, 3/5 (60%) *K. oxytoca*, 8/9 (88,9%) *C. freundii*, e 4/6 (66,7%) *S. marcescens* KPC+. La visualizzazione manuale degli spettri ha confermato l'assenza del picco negli isolati KPC+ in cui esso non è stato rilevato dal software automatico.

CONCLUSIONI

L'identificazione dei ceppi produttori di KPC mediante MALDI subtyping è stato implementato con successo nella nostra pratica di routine, e si è dimostrato essere un metodo molto affidabile, accurato, ed estremamente rapido, consentendo di abbreviare significativamente i tempi di refertazione in confronto al workflow precedentemente utilizzato (da 1 a 24-48 h).

Lo stesso approccio che ha consentito la rilevazione istantanea dei ceppi di *K. pneumoniae* produttori di KPC durante l'identificazione di routine, è stato applicato con successo alla rilevazione della produzione di KPC in altre specie di enterobatteri clinicamente rilevanti, in quanto il picco KPC-specifico è stato rilevato dal software dedicato anche in *E. coli*, *Enterobacter* spp., *K. oxytoca*, *C. freundii* e *S. marcescens*.