

MALDI-TOF E TEST IMMUNOCROMATOGRAFICI PER L'IDENTIFICAZIONE DIRETTA DI K. PNEUMONIAE PANRESISTENTE NELLE EMOCOLTURE POSITIVE

D. Perugini¹, S. Dodaro¹, F. Greco¹, M.V. Mauro¹, G. Cortese¹, C. Giraldi¹

¹UOC Microbiologia e Virologia AO Cosenza

INTRODUZIONE

La sepsi è una grave patologia umana associata ad elevati tassi di morbosità e mortalità, la cui eziologia può essere legata, soprattutto in ambito assistenziale, ad enterobatteri multiresistenti o panresistenti, primo tra tutti K.pneumoniae resistente ai carbapenemi (CRE) e colistina (ColR). La precocità dell'intervento diagnostico, con rapide risposte sull'agente eziologico e di conseguenza con terapie mirate è decisiva ai fini prognostici ed è associata ad una concreta riduzione della mortalità. Nelle sepsi da K.pneumoniae, al fine di offrire al clinico risultati rapidi ed appropriati rispetto ai metodi convenzionali, abbiamo comparato i risultati ottenuti dal nostro sistema tradizionale di identificazione ed antibiogramma con quelli riscontrati direttamente da emocoltura positiva ed identificati mediante sistema MS MALDI-TOF. La resistenza ai Carbapenemi e Colistina da K.pneumoniae è stata valutata utilizzando test rapidi immunocromatografici e non indagini molecolari.

METODI

Lo studio è stato condotto nell'UOC di Microbiologia e Virologia dell'A.O. di Cosenza nel periodo Gennaio – Agosto 2018. Le emocolture positive per K.pneumoniae CRE sono state n°35 e per K.pneumoniae CRE-ColR n°14. L'esame colturale delle emocolture è stato eseguito mediante sistema BACTEC Plus aerobi - anaerobic/F Culture Vials. L'identificazione è stata eseguita mediante MS MALDI-TOF direttamente dal flacone di emocoltura positiva. Un'aliquota di emocoltura di circa 8 ml veniva prelevata in tutti i flaconi positivi all'esame microscopico per bacilli Gram negativi e centrifugata a 3500 rpm per 15 minuti in provetta BD Vacutainer. Dopo centrifugazione il pellet batterico, veniva ripulito attraverso tre lavaggi con acqua distillata. Si aggiungeva acido formico per lisare le cellule batteriche e liberare le proteine. Il ceppo di K.pneumoniae era poi identificato con MALDI-TOF. La resistenza ai carbapenemi KPC, OXA, VIM, IMP, NDR e a colistina era invece valutata direttamente dal flacone di emocoltura positivo utilizzando test rapidi Immunocromatografici. L'iter diagnostico tradizionale è stato eseguito in parallelo seminando le emocolture positive su agar sangue di, agar cioccolato, agar MacConkey e terreni cromogenici CHROMID ESBL e CHROMID CARBA per 24 ore a 35-37°C. L'identificazione dei ceppi con il rispettivo antibiogramma è stata valutata con sistema VitekMS e Vitek2, e la resistenza alla colistina è stata confermata con il metodo di broddiluizione Colistina.

RISULTATI

Tutte le emocolture positive per K.pneumoniae (n.35) sono state identificate correttamente anche con MS MALDI-TOF direttamente da flacone di emocoltura positiva. Vi è stata anche una concordanza del 100% tra sistema tradizionale e diretto per la rilevazione di K.pneumoniae KPC in tutti i 35 campioni. Il test rapido Immunocromatografico per ColR, eseguito nelle 14 emocolture positive di K.pneumoniae CRE e ColR (MIC Col: 12 -16 mg/dl) è risultato invece sempre negativo sia direttamente da emocoltura positiva che da colonia.

CONCLUSIONI

Dalla nostra esperienza è emerso che MS MALDI ed l'immunocromatografia per il rilievo delle resistenze ai carbapenemi direttamente da flacone positivo, permettono di identificare correttamente, dopo circa 4 ore dalla positivizzazione dell'emocoltura, la presenza di K. pneumoniae KPC responsabile di sepsi. Di nessuna utilità diagnostica si è dimostrato invece il test Immunocromatografico per il rilievo dei ceppi di K.pneumoniae panresistenti CRE e ColR direttamente da emocoltura.