

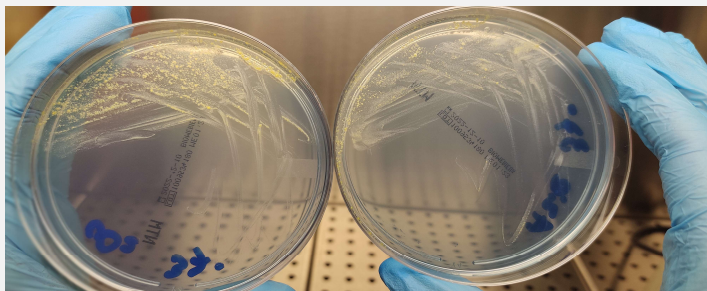
TITOLO: VALUTAZIONE DELLA PIASTRA NTM Elite Agar (Biomérieux) PER L'ISOLAMENTO DI MICOBATTERI NON TUBERCOLARI

AUTORI: Giulio Camarlinghi*, Emanuela Nardelli*, Valentina Di Carlo*, Catia Buracchi*, Monica Brillì*, Giuseppina Ganghini*, Desirè Lusini*, Michela Monci*, Marilena Rubichini*, Federico Sabatini*, Valentina Soldini*, Eva Maria Parisio*

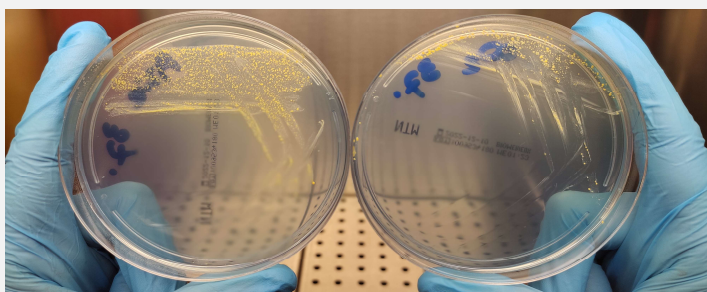
*: UOSD Microbiologia PO San Donato Arezzo, Azienda Usl Toscana Sud Est

INTRODUZIONE E SCOPO: I micobatteri non tubercolari (NTM) sono ubiquitari nell'ambiente e responsabili di forme polmonari croniche di difficile gestione e trattamento, soprattutto in pazienti al di sopra di 50 anni, HIV positivi, con fibrosi cistica o BPCO. La corretta identificazione dell'agente infettivo è il punto di partenza di una buona diagnosi e passa necessariamente attraverso un esame colturale, d'altro canto l'isolamento degli NTM nella routine diagnostica risulta essere una procedura lunga ed indaginoso. Il terreno NTM Elite Agar (NEA) è un terreno selettivo e specifico per NTM che consente l'isolamento sia da campione diretto che da coltura positiva. In questo lavoro è stata valutata la crescita microbica in termini di tempo, condizioni ambientali (temperatura ed atmosfera) e di caratteristiche morfologiche delle colonie di alcune specie di NTM.

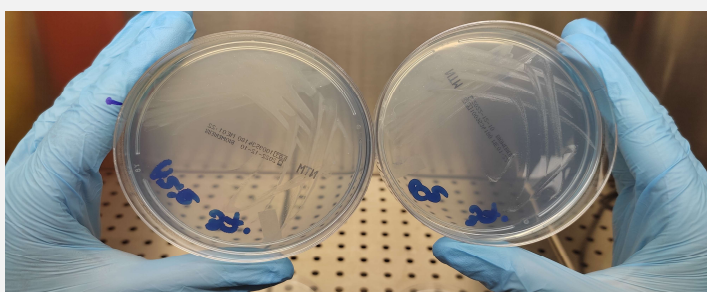
MATERIALI E METODI: L'algoritmo per l'isolamento ed identificazione di NTM in uso presso il nostro laboratorio segue le linee di indirizzo del "PERCORSO DIAGNOSTICO DELLE MICOBATTERIOSI" a cura del Gruppo di Lavoro Micobatteri di AMCLI. In particolare dal campione biologico, dopo specifica decontaminazione, si esegue identificazione dell'eventuale NTM isolato in coltura solida LJ (Lowenstein-Jensen, Biolife) e/o liquida (MGIT, Becton Dickinson) sia mediante l'utilizzo di sonde molecolari DNA-PROBE (GenoType Mycobacterium CM, Brucker) che mediante spettrometria di massa MALDI-TOF (Vitek MS, Biomérieux). Nel periodo ottobre-dicembre 2022, presso il nostro laboratorio sono stati eseguiti 180 esami colturali per micobatteri, di cui 6 sono risultati positivi per NTM in seguito ad analisi multiplex PCR real-time (Anyplex™ MTB/NTM, Seegene). Per ciascuna coltura positiva 100 µl di terreno MGIT sono stati seminati sul terreno NEA e le piastre sono state incubate in parallelo a 30 °C e a 37°C, sia in atmosfera arricchita di CO₂ (3.5-9%) che aerobia. A partire dal terzo giorno di incubazione è stata valutata a giorni alterni la crescita su ciascuna piastra incubata; in particolare è stata apprezzata la presenza di colonie, la loro morfologia, il colore ed il tempo di crescita. Le colonie cresciute sono state successivamente identificate sia mediante Vitek MS che mediante GenoType Mycobacterium CM.



M.gordonae (4gg., 37°C in CO₂) *M.gordonae* (4gg.,37°C in aerobiosi)



M.gordonae (4gg., 37°C in CO₂) *M.gordonae* (4gg.,37°C in aerobiosi)



M.avium(4gg., 37°C in aerobiosi) *M.gordonae* (4gg.,37°C in CO₂)

RISULTATI: Sono state identificate le seguenti specie di NTM: 3 *Mycobacterium avium*, 1 *Mycobacterium intracellulare* e 2 *Mycobacterium gordonae*. È stato rilevato il 100% di concordanza di identificazione di specie fra i ceppi cresciuti sia in terreno MGIT e LJ che in NEA. Per tutti i ceppi è stata evidenziata crescita su NEA a partire dal 4° giorno di inoculo. Le colonie di *M. gordonae* sono risultate piccole, lisce e di colore giallo-arancio, mentre quelle di *M. avium* e *M. intracellulare* piccole, opache e trasparenti. Non è stata rilevata nessuna differenza di crescita alle diverse condizioni di temperatura ed atmosfera. Uno dei due campioni positivi per *M. gordonae* ha mostrato crescita anche per *Achromobacter xylosoxidans* solamente nella piastra NEA incubata a 37°C.

CONCLUSIONI: Il terreno NEA risulta un buon e valido ausilio nel percorso diagnostico di isolamento di NTM a partire da terreno MGIT positivo, in quanto evidenzia la crescita a partire dal 4° giorno di incubazione. Il terreno risulta selettivo alla temperatura di incubazione di 30°C in quanto non consente la crescita di altri batteri considerati contaminanti, come per *A. xylosoxidans*.

BIBLIOGRAFIA:

1. PERCORSO DIAGNOSTICO DELLE MICOBATTERIOSI 2020 A cura del GLaMic - AMCLI
2. Larsson LO, Polverino E, Hoefsloot W, Codecasa LR, Diel R, Jenkins SG, Loebering MR. Pulmonary disease by non-tuberculous mycobacteria - clinical management, unmet needs and future perspectives. Expert Rev Respir Med. 2017 Dec;11(12):977-989. doi: 10.1080/17476348.2017.1386563. Epub 2017 Oct 10. PMID: 28967797.
3. Floto RA, Olivier KN, Saitman L, Daley CL, Herrmann JL, Nick JA, Noone PG, Bilton D, Corris P, Gibson RL, Hempstead SE, Koetz K, Sabadosa KA, Sermet-Gaudelus I, Smyth AR, van Ingen J, Wallace RJ, Winthrop KL, Marshall BC, Haworth CS; US Cystic Fibrosis Foundation and European Cystic Fibrosis Society. US Cystic Fibrosis Foundation and European Cystic Fibrosis Society consensus recommendations for the management of non-tuberculous mycobacteria in individuals with cystic fibrosis. Thorax. 2016 Jan;71 Suppl 1(Suppl 1):i1-22.