

1-Circuito Interlaboratorio per: Prove di identificazione di ceppi isolati del genere *Mycobacterium* mediante tecniche microbiologiche/biochimiche (Tubercolosi bovina)

Matrici

Pannello di 5 ceppi micobatterici isolati dal campo risospesi in terreno liquido Middlebrook 7H9 così costituiti:

2.1. Preparazione e tipologia dei campioni

Ai laboratori che hanno partecipato, sono stati inviati 5 ceppi micobatterici isolati dal campo risospesi in terreno liquido Middlebrook 7H9.

PROVE MICROBIOLOGICHE: ESITI ATTESI

Ceppo	Caratteristiche colturali					Caratteristiche biochimiche			
	Velocità crescita	Crescita a 25 °C	Crescita a 37 °C	Crescita a 42 °C	Foto-reattività	Ureasi	Tellurito	Nitrati	Niacina
1) <i>M. bovis</i>	L	N	N	N	N	P	N	N	N
2) <i>M. avium</i>	L	V	P	N	N	N	P	N	N
3) <i>M. fortuitum</i>	R	P	P	N	N	P	V	P	N
4) <i>M. nonchromogenicum</i>	L	P	V	N	N	N	N	N	N
5) <i>M. marinum</i>	I,L	P	N	N	F	P	V	N	V

Ceppo	Caratteristiche biochimiche					Test di crescita		
	Aril-solfatasi	Pirazinamidasi	Tween idrolisi	Catalasi t.s.	Ferro utilizzo	T2H	NaCl 5%	McConkey senza cv
1) <i>M. bovis</i>	N	N	N	N	N	N	N	N
2) <i>M. avium</i>	N	P	N	I	N	P	N	V
3) <i>M. fortuitum</i>	P	P	N	P	P	P	P	P
4) <i>M. nonchromogenicum</i>	N	P	P	P	N	P	N	N
5) <i>M. marinum</i>	P	P	P	P	N	P	V	N

LEGENDA ESITI

- Velocità di crescita: R (rapida: non superiore a 7 giorni); I (intermedia: 8 – 14 giorni); L (lenta: oltre 14 giorni)
- Fotoreattività (produzione pigmento): N (non cromogeno); F (fotocromogeno)
- Caratteristiche colturali e biochimiche: P (positivo), I (intermedio/dubbio), N (negativo), V (variabile)

Analiti

Per le prove microbiologiche/biochimiche:

Ceppi batterici

Luogo e periodo di svolgimento

Luogo: Italia, cinque laboratori (vedi dettaglio punto successivo)

Periodo: Marzo 2018-Marzo 2019

Partecipanti

I laboratori degli Istituti Zooprofilattici Sperimentali che hanno aderito al circuito sono stati:

- Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d’Aosta (Torino)
- Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia (Barcellona P/G)
- Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia (Palermo)
- Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana (Roma)

Anche l’Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell’Emilia – Romagna, che ha organizzato il circuito, ha preso parte in qualità di partecipante.

Follow up, Conclusioni e Raccomandazioni

Dei 5 laboratori partecipanti solo tre hanno eseguito le prove di identificazione con metodi microbiologici/biochimici. Un laboratorio non ha eseguito le prove, mentre un laboratorio ha identificato correttamente tutti i ceppi senza ricorrere alle prove microbiologiche ma utilizzando metodi molecolari. I risultati delle prove microbiologiche, dei tre laboratori che le hanno eseguite, sono riportati nella tabella sottostante.

Id campione	Risultato atteso	lab 100	lab 90	lab 270
1	<i>M. bovis/M. caprae</i>	<i>M. bovis</i>	MTBC	<i>M. bovis</i>
2	<i>M. avium</i>	<i>M. phlei</i>	<i>M. avium</i> complex	<i>M. avium</i>
3	<i>M. fortuitum</i>	<i>M. fortuitum</i>	<i>Mycobacterium</i> spp.	<i>M. fortuitum</i>
4	<i>M. nonchromogenicum</i>	<i>M. vaccae</i>	<i>Mycobacterium</i> spp.	<i>M.</i> <i>nonchromogenicum</i>
5	<i>M. marinum</i>	<i>M. gordonae</i>	<i>Mycobacterium</i> spp.	<i>M. marinum</i>

Le prove microbiologiche/biochimiche pur essendo tuttora presenti nella normativa nazionale, sono utilizzate solo dal CRN-TB e da pochi laboratori della rete IZZSS.

Tutti i laboratori che hanno utilizzato metodi microbiologici/biochimici hanno correttamente identificato il ceppo appartenente al gruppo MTBC (*M. bovis*/*M. caprae*).

Il laboratorio 90 ha utilizzato i test sulle caratteristiche colturali (velocità e temperatura di crescita) e alcuni test biochimici (ureasi, tellurito, pirazinamidasi, T2H) che hanno portato all'identificazione di micobatteri del gruppo MTBC, del gruppo *M. avium* complex e Mycobacterium other than tuberculosis (MOTT).

Il laboratorio 100 ha utilizzato oltre ai test colturali/morfologici (velocità e temperatura di crescita, pigmentazione) anche alcuni test biochimici (ureasi, tellurito, riduzione dei nitrati, niacina) ma non è stato in grado di identificare correttamente 2 ceppi MOTT ed *M. avium*.

Il laboratorio 270 ha identificato correttamente tutti i ceppi.

Da precisare che il laboratorio 90 utilizza tutte le tecniche molecolari indicate dal LRN-TB per identificare *M. bovis*, *M. caprae* (agenti eziologici della TB) e differenziarli dagli altri componenti dal gruppo MTBC così come dai micobatteri MOTT.

Il circuito conferma che i laboratori che utilizzano le tecniche microbiologiche/biochimiche, lo fanno solo in modo parziale e, in particolare, con l'obiettivo di identificare la specie *M. bovis* che è quella che riveste la maggiore importanza sotto il profilo sanitario. Per le altre specie l'esito fornito non è sempre definitivo ovvero si limita all'identificazione del genere *Mycobacterium* o di un raggruppamento (*M. tuberculosis* complex, *M. avium* complex).

Bibliografia

Roberts, G.D.; Koneman, E.W.; Kim, Y.K. Mycobacterium, in: Balows, A.; Hausler, W.J. Herrmann, K.L.; Isenberg, H.D.; Shadomy H.J. (eds.) Manual of clinical microbiology. 5th ed. American Society for Microbiology, Washington D.C.: 304 – 339; 1991

Lutz, B. Identification tests for mycobacteria, in: Isenberg, H.D. (ed.) Clinical microbiology procedures handbook. American Society for Microbiology, Washington D.C.: 3.12.1 – 3.12.29; 1992