

L'identificazione batterica può essere effettuata andando a valutare due tipi di carattere : fenotipici (morfologia della cellula, stabilire se sono gram +/- , spettro proteomico, caratteri biochimici e antigenici). Affrontiamo ora i caratteri biochimici.

Ipotizziamo di avere un tampone infetto, che viene seminato su un terreno. Innanzitutto posso andare ad allestire un vetrino con una colorazione di gram, guardo i caratteri fenotipici per la conferma ho poi bisogno di valutare i caratteri biochimici e per farlo uso il test della catalasi, in natura un metodo utilizzato dai batteri per resistere agli agenti dell'ossigeno, gli stafilococchi producono catalasi e quindi in base alla presenza di questo enzima differenzio la tipologia di batterio. Quale è la specie? Mi baso su un altro test biochimico che è la produzione di coagulasi, capace di indurre una coagulazione del plasma per evidenziare la presenza di staphilococcus aureus e distinguerlo da altri staphilococchi. Come si fa: si mette a contatto delle cellule con del plasma, si lascia incubare, se il test è positivo si avrà un coagulo di fibrina evidente all'interno della provetta, se invece il test è negativo non avremo il coagulo di fibrina.

Guardando i caratteri antigeni si utilizzano degli specifici anticorpi che si legano a specifici antigeni della singola specie batterica, come avviene questo: le cellule batteriche vengono risospese in presenza di anticorpi specifici per un certo antigene, se la reazione è avvenuta, si formano aggregati macroscopici.

Valutiamo adesso il profilo proteico, si basa sul concetto di spettrometria di massa MALDI-TOF , tecnica che consente di misurare il peso molecolare e permette di valutare il rapporto massa-carica. Come si fa: abbiamo un supporto metallico, si mette un po' di colonia su questi pozzetti della lastra Metallica e si copre il campione con una matrice, poi si inserisce la lastra all'interno del Vacuum e il campione va a riempire i pozzetti, a questo punto le proteine si spostano in base alla loro massa, quando il rilevatore dello strumento raggiunge la proteina si ottiene un segnale, ovvero uno spettro di proteine che viene poi confrontato con dei data base che mi permette di trovare una specificità ed identificare la specie batterica. I vantaggi sono la precisione e i costi, ma soprattutto la rapidità.

Questo principio MALDI TOF è usato anche per valutare i profili di resistenza del batterio.

Per identificare la specie si possono utilizzare anche i caratteri genotipici, andando a valutare la sequenza nucleotidica mediante sequenza entro di rDNA 16s.

Ora si parla anche di tecniche di sequenziamento genomico in grandi quantità e tempi molto ristretti.

Test di sensibilità antimicrobica: attività cruciale di laboratorio che necessita di personale alta, e te qualificato e dispositivi appropriati, serve per dare una risposta sulla reazione fenotipici su quella che è l'esposizione di un batterio ad un determinato agente microbico. Permette di sviluppare una terapia mirata, valutare quale è il fenotipo di resistenza dei batteri in modo tale che il clinico possa andare ad impostare una terapia mirata.

Il parametro chiave del test di sensibilità antimicrobica è la MIC (minima concentrazione inibente, in grado cioè di inibire la crescita batterica, misurata in condizioni standard). Questi test sono di vari tipi:

- microdiluzione in brodo
- Agar diluizione
- Diffusione su gradiente
- Disco diffusione