

# Ulteriori valutazioni di un programma computerizzato per l'identificazione dei micobatteri

E. Tortoli, C. Lacchini\*

Laboratorio di Batteriologia e Virologia Ospedale di Careggi, Firenze

\* Consultorio Pneumologico Antitubercolare, Milano

**A previously valued computer program for identification of mycobacteria, having been modified, has been subjected to a new examination.**

**The comparison of conventional and computed identifications, drawn from results of biochemical and cultural tests done on 120 mycobacteria other than tubercle, showed overall**

**agreement for 93.9% of them, whereas in left 6.1% the conventional identification coincided with the 2nd choice one supplied by the computer.**

**The use of the Kappa statistic (=0,904) emphasises a very good agreement so confirming the validity of the program as an aid in mycobacterial identifications.**

PAROLE CHIAVE : MICOBATTERI - COMPUTER - TASSONOMIA NUMERICA

KEY WORDS : MYCOBACTERIA - COMPUTER - NUMERICAL TAXONOMY

## Introduzione

L'identificazione dei micobatteri non tubercolari (MOTT) è spesso considerato un compito non alla portata della maggior parte dei laboratori di batteriologia generale e solo di rado viene eseguita. Soltanto una parte dei MOTT isolati in Italia pervengono infatti ai centri di riferimento per l'identificazione di specie.

Tale mancanza di interesse per il problema è probabilmente conseguenza dei tempi lunghi necessari per l'esecuzione dell'identificazione e soprattutto delle difficoltà pratiche che questa presenta.

Questa consuetudine che fino a qualche tempo fa poteva essere, se non giustificata, almeno tollerata, è oggi del tutto anacronistica. Anche nel nostro paese, infatti, gli isolamenti di MOTT sono in continuo aumento ed una corretta identificazione può avere riscontri pratici di grande portata, essendo notevoli le differenze di significato clinico e di sensibilità ai farmaci esistenti fra le varie specie micobatteriche.

Una delle fasi critiche del processo identificativo è rappresentata dalla sintesi, spesso assai laboriosa, che dai risultati dei tests di identificazione permette di risalire all'individuazione della specie. La problematica di tale passaggio è essenzialmente legata alla estrema variabilità che nell'ambito del genere *Mycobacterium* possono presentare le proprietà biochimiche e colturali saggiate nei tests di identificazione.

Si tratta di una problematica non esclusiva dei micobatteri che è stata affrontata e brillantemente risolta, ad esempio per quanto riguarda le Enterococci,

bacteriaceae, grazie al ricorso all'approccio probabilistico. Kubica (1973), Wayne et al. (1980 e 1984) hanno dimostrato la validità dell'impiego della tipizzazione computerizzata anche nell'ambito del genere *Mycobacterium*.

Un "software" per l'identificazione di tali microrganismi è stato messo a punto e valutato da uno di noi Tortoli (1990) con risultati complessivamente positivi su circa 200 identificazioni di MOTT. Si tratta, in rapida sintesi, di un programma che valuta i risultati delle prove eseguite per la speciazione (sono previsti 23 tests diversi, ma il sistema può essere attivato indipendentemente dal numero di quelli disponibili) desumendone, in termini probabilistici, l'identificazione più plausibile affiancata da una o due alternative con le relative percentuali. Altre prerogative del sistema sono la segnalazione delle eventuali caratteristiche "atipiche" per le specie proposte, il suggerimento, fra quelli non eseguiti, di tests capaci di confermare le identificazioni più probabili, e la valutazione della "tipicità" di queste ultime.

Nel tentativo di approfondire la valutazione del programma suddetto, anche in rapporto alle modifiche ad esso apportate nel frattempo, si è ritenuto utile allargare il riesame ad altre identificazioni che si differenziassero, da quelle prese in considerazione in precedenza, per l'area geografica di provenienza degli stipiti e per il centro di esecuzione.

## Materiali e metodi

Rispetto al programma descritto nello studio precedente, sono stati sostituiti alcuni tests di identificazione e sono state totalmente cambiate le modalità di valutazione dei tests non

eseguiti o di cui, per certe specie, non sono riportate in letteratura le percentuali di positività.

Per quanto riguarda le prove, sono state eliminate, perché scarsamente determinanti ai fini dell'identificazione, quelle della catalasi e della crescita su nutrient agar; sostituite da quelle di crescita in presenza di oleato e di ac. p-aminobenzoici.

Per quanto riguarda la valutazione dei tests non eseguiti, il loro "peso" è stato svincolato dalle percentuali di positività delle singole specie e reso uguale per tutte.

Infine, la frequenza di positività dei tests privi, per alcune specie, di una adeguata documentazione è stata posta =0,50 e comunque valutata (valutazione che non veniva effettuata nel programma precedente).

Si tratta, come si può facilmente comprendere, di correttivi tendenti, nel primo caso, ad evitare che la mancata esecuzione di una prova privilegiasse le specie che per tale test hanno percentuali elevate (di positività o di negatività) rispetto a quelle caratterizzate da maggiore variabilità; e, nel secondo caso, a minimizzare il vantaggio di cui godevano, al momento della selezione della identificazione più probabile, i micobatteri meno frequenti e meno conosciuti (di cui quindi è ignoto il comportamento rispetto a certi tests).

Le identificazioni micobatteriche, utilizzate per valutare il sistema in questa sede, provengono in gran parte dal Consultorio Pneumologico Antitubercolare di Milano; essendo esse il frutto di criteri identificativi che, ancorché sostanzialmente simili, non sono completamente sovrapponibili per modalità di esecuzione e numero di tests a quelli impiegati nel laboratorio di Firenze (oggetto di una precedente valutazione), ci è parso potessero costituire un valido banco di prova della effettiva affidabilità del programma.

A tali identificazioni (n. 89) ne sono state aggiunte, al fine di evidenziare eventuali differenze di comportamento del pro-

gramma, altre (n. 31) eseguite negli ultimi mesi presso il laboratorio di Firenze e non comprese nella valutazione precedente. In sintesi, sono stati inseriti nel computer, per ogni ceppo micobatterico, i risultati (positivo, negativo o non eseguito) dei 23 tests previsti dal programma e sono state poi confrontate le identificazioni risultanti con quelle ottenute ricorrendo al sistema tradizionale.

## Risultati

Le percentuali di concordanza sono risultate assai elevate: del 92% per i ceppi di Milano e del 94% per quelli di Firenze; non emergendo differenze significative fra i due gruppi (chi-quadro secondo il metodo esatto di Fisher = 1,007) questi sono stati considerati come un unico insieme in tutte le valutazioni successive.

I dati numerici emersi dal confronto sono sintetizzati nella Tab. I.

Per una valutazione più accurata delle concordanze fra identificazioni tradizionali e computerizzate è stato eseguito il test statistico Kappa di Cohen (1960) che ha dato come risultato 0,904 con un errore standard di 0,035, valori rappresentativi, secondo Landis e Koch (1977), dell'eccellente livello di concordanza, al di là del caso", dei due sistemi.

*Tab. I - Identificazioni delle specie micobatteriche isolate nei laboratori di Milano (A) e di Firenze (B). In C sono riportate le percentuali di probabilità delle identificazioni "computerizzate" coincidenti con quelle "tradizionali"; in D le percentuali dei casi in cui l'identificazione "tradizionale coincideva, invece, con quella fornita dal computer come "seconda scelta". Nella colonna E sono indicate le percentuali dei casi in cui il computer ha segnalato la scarsa tipicità dell'identificazione, mentre in F è riportato il numero medio di tests supplementari di cui è stata suggerita l'esecuzione.*

Specie	A	B	C				D	E	F
			>90%	>80%	>70%	>50%			
M. avium complex	22	2	92%	8%	0%	0%	0%	0%	1,7
M. fortuitum	21	3	67%	0%	0%	4%	29%	0%	0
M. gordonae	15	3	95%	0%	5%	0%	0%	5%	0,8
M. chelonae	12	2	100%	0%	0%	0%	0%	19%	0
M. xenopi	0	15	100%	0%	0%	0%	0%	0%	0
M. kansasii	5	4	78%	11%	11%	0%	0%	11%	1,8
M. terrae complex	6	0	100%	0%	0%	0%	0%	0%	1
M. bovis	3	1	0%	50%	25%	0%	25%	0%	0,7
M. scrofulaceum	3	0	0%	100%	0%	0%	0%	0%	0
M. vaccae	0	1	0%	0%	100%	0%	0%	0%	0
M. marinum	1	0	0%	0%	0%	0%	100%	0%	0
M. flavescens	1	0	100%	0%	0%	0%	0%	0%	0
Totale	89	31	82%	7%	3%	1%	7%	5%	0,7

## Discussione

L'affidabilità del sistema computerizzati, per l'identificazione dei micobatteri risulta notevolmente incrementata dalle modifiche apportate.

Sottoposto al vaglio di due gruppi di identificazioni, differenti per: a) laboratorio di esecuzione, b) numero di tests identificativi (mediamente 15 in un caso e 21 nell'altro), c) frequenza di isolamento delle varie specie; il programma ha dimostrato una notevole flessibilità. Negli 8 casi (6,1%) in cui non si è avuta concordanza, l'identificazione ottenuta col sistema tradizionale è sempre risultata coincidente con la specie proposta dal computer come seconda scelta. L'esame di tali "errori" ha messo in luce la tendenza, peraltro presente anche nella versione precedente, ad etichettare come *M. chelonae* una certa percentuale di ceppi di *M. fortuitum* (6 su 24). L'eliminazione di tale sfasatura si colloca in prima linea fra gli obiettivi ancora da raggiungere. Le conclusioni non possono essere, quindi, sostanzialmente diverse da quelle già espresse in precedenza: il programma in esame, pur non avendo la finalità di sostituirsi all'esperienza del micobatteriologo, è in grado di fornire a quest'ultimo un valido punto di partenza nonché un utile suggerimento dei tests addizionali eventualmente utili ad aumentare l'affidabilità dell'identificazione.

## Bibliografia

- Cohen J.: A coefficient of agreement for nominal scales. *Educ. Psychol. Meas.*, **20**: 37, 1960.
- Kubica G.P.: Differential identification of mycobacteria. VIII. Key features for identification of clinically significant mycobacteria. *Am. Rev. Resp. in Dis.*, **107**: 9, 1973.
- Landis J.R., Koch G.G.: The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics*, **33**: 159, 1977.
- Tortoli E.: Computer aided identification of mycobacteria: a prototype of software to interpret the results of cultural and biochemical data. *Microbiologia Medica.*, **5**: 70, 1990.
- Wayne L.G., Krichevsky E.J., Love L.L., Johnson R., Krichevsky M.I.: Taxonomic probability matrix for use with slowly growing mycobacteria. *Int.J. Syst. Bacteriol.*, **30**: 528, 1980.
- Wayne L.G., Krichevsky M.I., Portyrata D. et al.: Diagnostic probability matrix for identification of slowly growing mycobacteria in clinical laboratories *J. Clin. Microbiol.*, **20**: 722, 1984.

## Riassunto

Un programma computerizzato per l'identificazione dei micobatteri, oggetto di una precedente valutazione, è stato, dopo opportune modifiche, sottoposto a nuovo esame.

Confrontando le identificazioni ottenute a partire dai risultati dei tests di identificazione di 120 micobatteri non tubercolari è emersa una concordanza del 93,9% mentre nei restanti casi (6,1%) l'identificazione tradizionale ha coinciso con l'identificazione di seconda scelta fornita dal computer. Come emerge anche dal calcolo dell'indice statistico K (=0,904) la concordanza risulta eccellente ed il sistema si conferma come un valido ausilio per il micobatteriologo.