

ISOLAMENTO DI UN CEPPLO DI MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS COMPLEX XDR PRESSO IL LABORATORIO DI MICROBIOLOGIA E VIROLOGIA DI NOVARA

A. Camaggi¹, M. Mantovani¹, M.G. Brunelli¹, F. Marini¹, E. Gobbato¹, O. Bargiacchi², S. Andreoni¹

¹Dipartimento interaziendale funzionale medicina dei laboratori Microbiologia e Virologia - AOU Maggiore della Carità di Novara

²Struttura Complessa di Malattie Infettive AOU Maggiore della Carità

INTRODUZIONE

L'utilità dei test molecolari (NAAT) per una più rapida diagnosi di tubercolosi è ormai nota.

Nel laboratorio di Microbiologia e Virologia di Novara è attualmente in uso il test Xpert MTB/RIF (Cepheid Sunnyvale CA), che consente di rilevare la presenza di Mycobacterium tuberculosis complex (MTB) e la sua eventuale resistenza alla rifampicina.

Le resistenze alla rifampicina sono dovute soprattutto a mutazioni all'interno della regione hot-spot del gene rpoB e quasi il 90% dei ceppi resistenti alla rifampicina lo sono anche all'isoniazide (MTB-MDR).

In aprile, dal reparto di Malattie Infettive viene inviato al laboratorio, l'escreato di un paziente ucraino, in cui si sospetta una riattivazione di malattia tubercolare; il paziente era già stato trattato per tubercolosi nel 2013.

METODI

Il campione viene sottoposto alla normale procedura di fluidificazione/decontaminazione quindi all'esame microscopico, colturale e di amplificazione. Il test di amplificazione Xpert MTB/RIF dopo meno di tre ore dall'arrivo del campione consente un risultato utile.

Il giorno seguente viene eseguito, il test genetico molecolare MTBDRplus (LPA – Hain Lifescience) in grado di rilevare mutazioni che conferiscono resistenza a rifampicina e isoniazide.

In terza giornata, dallo stesso estratto, si esegue il LPA MTBDRsl 1.0 (Hain Lifescience) per rilevare mutazioni in grado di conferire resistenza a etambutolo e ai farmaci di seconda linea per TB.

RISULTATI

All'esame microscopico non si rilevano bastoncini alcol acido resistenti (BAAR).

Il test di amplificazione Xpert MTB/RIF risulta positivo per MTB; inoltre, il ceppo risulta essere resistente alla rifampicina.

In seconda giornata il LPA MTBDRplus conferma la resistenza del ceppo alla rifampicina e rileva ben 2 mutazioni in grado di conferire resistenza a isoniazide: il ceppo viene quindi classificato come MDR.

Il terzo giorno il LPA MTBDRsl 1.0 evidenzia la resistenza del ceppo anche ai fluorochinoloni e aminoglicosidi/peptidi ciclici: il ceppo tubercolare viene identificato come extensively drug-resistant (XDR).

Dopo 8 giorni la coltura liquida (MGIT- Becton Dickinson) si positivizza; viene confermata la presenza di BAAR mediante microscopia e quindi eseguito il test di sensibilità fenotipico per farmaci di 1^a e 2^a linea.

Dopo 10 giorni di incubazione il test di sensibilità fenotipico conferma le resistenze rilevate a livello molecolare.

CONCLUSIONI

Grazie alle tecniche molecolari un caso di TB-XDR è stato identificato in terza giornata. L'utilizzo esclusivo delle tecniche convenzionali avrebbe evidenziato la natura MDR del ceppo dopo oltre 20 giorni e di TB-XDR ad almeno 30 giorni dall'arrivo del campione biologico.