

UTILIZZO DEL TEST GENOTYPE MTBDR-PLUS V2.0 PER LA TIPIZZAZIONE MOLECOLARE DELLA RESISTENZA A RIFAMPICINA E ISONIAZIDE IN CAMPIONI RESPIRATORI E NON RESPIRATORI DI PAZIENTI CON MALATTIA TUBERCOLARE

A. Vulcano¹, A. Toffoletti¹, C. Venditti¹, S. D'arezzo¹, E. Bordi¹, A. Mazzarelli¹, C. Apollonio¹, A. Di Caro¹, M.G. Paglia¹

¹U.O.C. Microbiologia e Banca Biologica, INMI "Lazzaro Spallanzani", Roma

INTRODUZIONE

I ceppi di *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) multi-farmaco resistenti (MDR) a rifampicina (RIF) ed isoniazide (INH) costituiscono un grave problema di sanità pubblica. Una rapida identificazione dei ceppi MTB-MDR è di primaria importanza per la somministrazione di una terapia appropriata che ne limiti la diffusione. L'esecuzione dell'antibiogramma tradizionale, pur essendo di facile esecuzione ed economico, richiede l'isolamento del bacillo tubercolare, mentre i test molecolari disponibili in commercio che ricercano le mutazioni note presenti sui geni di resistenza a RIF e INH possono essere eseguiti anche su campioni respiratori alcool-acido resistenti (BAAR) positivi. Lo scopo del lavoro è stato quello di verificare la concordanza tra i dati ottenuti con il test molecolare Genotype MTBDR-plus v2.0 (Hain), che evidenzia le resistenze genetiche note a RIF e INH, utilizzando campioni biologici vari MTB positivi, e i dati forniti dall'antibiogramma tradizionale, eseguito sui ceppi di MTB da questi isolati.

METODI

Nel biennio 2014-2015, 63 campioni biologici respiratori e non respiratori (57 espettorati, 2 broncolavaggi alveolari, 1 drenaggio da fistola, 1 materiale purulento, 1 urine, 1 aspirato gastrico) provenienti da pazienti ospedalizzati con malattia tubercolare in trattamento e con esame microscopico BAAR positivo, sono stati sottoposti al test molecolare Genotype MTBDR-plus v2.0. Per gli stessi campioni biologici sono state effettuate le colture in terreno liquido (Bactec MGIT 960). Inoltre, sui 63 ceppi di MTB isolati, è stato poi effettuato l'antibiogramma utilizzando Bactec MGIT 960 (Becton Dickinson). L'estrazione del DNA, preceduta da un trattamento con lisozima a 37°C per 1h, è stata eseguita con QIAamp® DNA Mini Kit (QIAGEN).

RISULTATI

Dei 63 campioni biologici testati con il test molecolare Genotype MTBDR-plus v2.0, 45/63 (71.4%) risultavano RIF e INH sensibili, ed erano in accordo con l'antibiogramma tradizionale.

11/63 (17.4%) campioni erano RIF e INH resistenti con entrambi i metodi, e 4/63 (6.3%) risultavano INH resistenti ad entrambi i metodi. Soltanto in tre campioni si osservava discordanza tra i due metodi utilizzati; 2/63 campioni (3.2%) erano INH sensibili al test molecolare e resistenti al test fenotipico, mentre solo 1 campione (1.6%) risultava RIF sensibile con il test molecolare e resistente con il test fenotipico.

CONCLUSIONI

Dall'analisi e dal confronto dei dati si è osservata una buona concordanza dei risultati ottenuti con il test molecolare e con l'antibiogramma tradizionale. Genotype MTBDR-plus v2.0 si è dimostrato un test di facile esecuzione quando applicato direttamente al campione biologico BAAR positivo, con il vantaggio di fornire precocemente al clinico informazioni sulla presenza di eventuali ceppi MDR. Inoltre è necessario ricordare che il test molecolare evidenzia solo le resistenze che si trovano in determinate regioni geniche (*rpoB*, *katG* e *inhA*), pertanto eventuali resistenze farmacologiche, che hanno per origine mutazioni situate in altri geni, non sono rilevabili.