

**RICERCA DI DNA DI MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS COMPLEX IN CAMPIONI ISTOLOGICI INCLUSI IN PARAFFINA MEDIANTE GENOTYPE MTBDRPLUS**

V. Lepera<sup>1</sup>, A. Nava<sup>1</sup>, D. Fanti<sup>1</sup>, E. Mazzola<sup>1</sup>, V. Motta<sup>2</sup>, C. Lauricella<sup>2</sup>, S. Veronese<sup>2</sup>, G. Gesu<sup>1</sup>

<sup>1</sup>S.C. Analisi Cliniche e Microbiologia – A. O. Ospedale Niguarda Cà Granda – Milano

<sup>2</sup>S.C. Anatomia Patologica - A. O. Ospedale Niguarda Cà Granda – Milano

**INTRODUZIONE**

Il riscontro morfologico, compatibile o suggestivo per un quadro patologico di tubercolosi, in prelievi bioptici fissati in formalina ed inclusi in paraffina spesso si associa alla mancanza dell'esame microbiologico per ricerca micobatteri. Lo scopo di questo studio è stato quello di valutare la possibilità di ricercare DNA di Mycobacterium tuberculosis complex in campioni istologici inclusi in paraffina mediante GenoType®MTBDRplus (HAIN Lifescience, Germany) per confermare/escludere diagnosi di tubercolosi e comparare il dato molecolare con quello morfologico.

**METODI**

Nel periodo 2013-2015 presso l'Ospedale Niguarda-Cà Granda di Milano sono stati raccolti ed esaminati 72 campioni istologici inclusi in paraffina ottenuti da 72 pazienti diversi. Dei campioni raccolti 17 avevano una localizzazione polmonare e 55 extrapolmonare.

Ciascun preparato istologico, dopo allontanamento della paraffina, è stato sottoposto ad estrazione di DNA genomico con iPrep™ Purification Instrument utilizzando un kit dedicato (iPrep™ ChargeSwitch Forensic Kit – Invitrogen). I DNA estratti sono stati successivamente quantificati mediante analisi spettrofotometrica.

I 72 campioni di DNA sono stati quindi studiati, seguendo le indicazioni del produttore, con test GenoType®MTBDRplus (HAIN Lifescience, Germany) che consente l'identificazione molecolare di Mycobacterium tuberculosis complex.

**RISULTATI**

Sulla base dei dati clinici disponibili, 39 (54.2%) pazienti risultavano affetti da tubercolosi, 20 (27.8 %) non affetti, mentre per 13 pazienti (18.0%) non è stato possibile disporre di dati clinici adeguati.

La valutazione molecolare, condotta sui 59 pazienti di cui erano disponibili notizie cliniche, ha dato il seguente risultato : 35 campioni positivi in 35 soggetti con diagnosi istologica e clinica compatibile con tubercolosi (97.2%), 1 campione positivo in un soggetto valutato clinicamente come sano (2.8%);

19 campioni negativi in 19 soggetti con esclusione di tubercolosi (82,6%), 4 campioni negativi in 4 soggetti con diagnosi di infezione tubercolare (17,4%).

Per i 4 campioni risultati negativi all'analisi con GenoType®MTBDRplus ma considerati positivi per tubercolosi dal punto di vista clinico-morfologico, si è riscontrato, alla lettura spettrofotometrica, un basso grado di purezza del DNA inteso come rapporto 260/280 : per 3 campioni, infatti, il valore era inferiore o uguale a 1.5 e per 1 campione il dato non era valutabile.

**CONCLUSIONI**

Dai dati ottenuti si può concludere che la metodica di amplificazione GenoType®MTBDRplus, applicata su campioni istologici fissati in formalina ed inclusi in paraffina, potrebbe rappresentare un valido contributo alla diagnosi di tubercolosi permettendo, inoltre, l'associazione tra il dato molecolare e quello morfologico. Il dato relativo al grado di purezza del campione, rappresentato dal rapporto 260/280, si è dimostrato fondamentale nell'attendibilità del test dal momento che il riscontro di valori inferiori o uguali a 1.5 pare rendere inaffidabile il risultato molecolare.