P067

BATTERIOLOGIA

FALSA RESISTENZA GENOTIPICA ALLA RIFAMPICINA OPPURE FALSA SENSIBILITA' FENOTIPICA?

A. Camaggi [1], M. Mantovani [1], E. Tagliani [3], F. Poletti [2], M.G. Brunelli [1], V. Mondino [2], D.M. Cirillo [3], S. Andreoni [1]
[1]*Laboratorio di Microbiologia e Virologia, AOU Maggiore della Carità di Novara*
[2]*S.S.V.D. Malattie Infettive, A.S.L. V.C.O.*
[3]*Unità Patogeni Emergenti, Istituto Scientifico San Raffaele, Milano*

INTRODUZIONE

La diffusione della tubercolosi multi-farmaco resistente (MDR-TB) e della tubercolosi estremamente resistente ai farmaci (XDR-TB) sono un grave problema clinico-sanitario di rilevanza globale.

METODI

Nel giugno scorso, il Laboratorio di Microbiologia riceve un campione di espettorato di un paziente italiano con pregressa TB (non databile), per la ricerca di MTB. Il campione viene sottoposto alla normale procedura di decontaminazione/fluidificazione (NAC-PAC®Red/Alphatec-Arnika Srl) e successivamente vengono eseguiti: esame microscopico, coltura solida (LJ-BD) e liquida (MGIT960-BD) e test molecolare Xpert® MTB/RIF Ultra (Cepheid) che rileva rapidamente la positività per MTB e la resistenza a rifampicina. In seguito si procede all'esecuzione del test molecolare GenoType MTBDRplus VER2.0 (Hain-lifescience/Bruker) che non rileva la resistenza all'isoniazide e non conferma quella alla rifampicina. La discordanza di risultati pone il dubbio sulla presenza di una falsa resistenza rilevata con Xpert MTB/RIF Ultra o sulla possibilità di un campione caratterizzato da una popolazione mista, wild type e mutata con mutazioni non rilevabili dall'ultimo test eseguito. Il risultato di MTBDRplus caratterizzato da bande wild type piuttosto deboli rispetto alle altre lascia infatti sospettare un eteroresistenza. Dopo 3 giorni si ottiene la crescita di MTB in coltura liquida e si procede all'allestimento del test di sensibilità fenotipico, MGIT960. Viene rilevata la crescita esclusivamente nella provetta MGIT contenente l'isoniazide e da quest'ultima, si ripete il test MTBDRplus che conferma i risultati descritti in precedenza sebbene il test di sensibilità fenotipico confermi la resistenza all'isoniazide e all'etambutolo ma non alla rifampicina (rilevata in 51^ giornata).

RISULTATI

Come indicato dai percorsi diagnostici AMCLI, alcune mutazioni nel gene rpoB determinano risultati falsamente sensibili in MGIT (es: H526A e H526L rilevabili con Xpert e Lipa). Essendo il ceppo MDR, è stato inviato al Centro San Raffaele che coordina il "Pilot study on the use of WGS for molecular typing and characterization of M. tuberculosis for the preparation of genomic surveillance of MDR-TB in the EU/EEA". Le analisi mediante Whole Genome Sequencing (WGS), hanno confermato la resistenza alla rifampicina causata da mutazione rpoB H526A, non rilevabile pertanto con MGIT. Il test WGS ha confermato anche le resistenze a isoniazide (katG S315A) e a etambutolo (embB M306V).

CONCLUSIONI

Sulla base di quanto descritto risulta evidente che l'antibiogramma fenotipico, utilizzando la "critical concentration" attualmente in uso, non possa essere considerato il gold standard per la rifampicina se il ceppo presenta specifiche mutazioni; in questi casi particolari solo l'utilizzo combinato di tecniche molecolari e non, consente una rapida e accurata diagnosi di TB e delle TB-MDR.