

VALUTAZIONE DI XPERT MTB/RIF ULTRA SU TESSUTI FISSATI IN FORMALINA E INCLUSI IN PARAFFINA

A. Camaggi¹, C. Veggiani², M. Mantovani¹, R. Boldorini², S. Andreoni¹

¹DIPARTIMENTO INTERANZIENDALE FUNZIONALE MEDICINA DEI LABORATORI DI MICROBIOLOGIA E VIROLOGIA AOU MAGGIORE DELLA CARITA' NOVARA

²STRUTTURA COMPLESSA DI ANATOMIA PATOLOGICA AOU MAGGIORE DELLA CARITA' NOVARA

INTRODUZIONE

La tubercolosi (TB) causata da *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) continua ad essere un grave problema di sanità pubblica e può interessare tutti gli organi e tessuti dell'organismo. Una diagnosi rapida e accurata rappresenta quindi un elemento importante per il trattamento e il controllo della malattia: l'OMS raccomanda l'utilizzo di metodi rapidi e sensibili che forniscano diagnosi e informazioni sulla resistenza ai farmaci. In alcuni casi il sospetto di malattia tubercolare è istologico (presenza di infiammazione granulomatosa e necrosi caseosa) con impossibilità da parte del laboratorio di microbiologia ottenere una biopsia da sottoporre a coltura, microscopia e test di amplificazione; le biopsie inviate al laboratorio di anatomia patologica (LAP) vengono infatti fissate in formalina e incluse in paraffina (FFPE).

Lo scopo di questo studio è stato quello di valutare: Xpert MTB/RIF Ultra (Xpert Ultra) (Cepheid, Sunnyvale, USA), su tessuto FFPE. I risultati ottenuti sono stati confrontati con i risultati ottenuti dal LAP che utilizza per la ricerca di MTB una nestedPCR (nPCR).

METODI

Confrontando il nostro archivio di pazienti con TB con quello del LAP, abbiamo selezionato trenta casi: 24 positivi e 6 negativi. Trenta campioni FFPE provenienti da diversi distretti umani sono stati sottoposti ad analisi molecolare con Xpert Ultra dopo la deparaffinazione. Xpert Ultra utilizza due diversi target di amplificazione multi-copia (IS6110 e IS1081) per il rilevamento del DNA di MTB, è un'analisi semiquantitativa e consente di rilevare mutazioni del gene *rpoB* associate alla resistenza alla rifampicina. Nel LAP gli stessi campioni erano stati sottoposti a nPCR usando J e K (primer esterno) e IS1 e IS2 (primer interno) per amplificare un frammento di 121bp di IS6110 di MTB.

RISULTATI

I risultati dell'archivio colturale hanno confermato i risultati di Xpert Ultra.

Abbiamo confrontato i risultati con nPCR e in 28 casi i risultati di entrambi i metodi erano sovrapponibili: 22 casi erano positivi per MTB (1 rilevato alto, 4 rilevati bassi, 7 rilevati molto bassi e 10 rilevate tracce di MTB) e 6 negativi. Per due casi i risultati erano discordanti: Xpert Ultra "MTB trace detect" mentre nPCR era negativo. Informazioni sulla resistenza alla rifampicina con Xpert Ultra per i risultati positivi a MTB sono stati: 12 resistenza alla rifampicina non rilevata e 12 resistenza alla rifampicina sconosciuta (il risultato "rilevata traccia di MTB" non fornisce informazioni sulla resistenza alla rifampicina). I risultati sono stati ottenuti: in un giorno e mezzo con nPCR, in meno di 5 ore con Xpert Ultra.

CONCLUSIONI

Dai dati ottenuti, Xpert Ultra risulta essere un test veloce, affidabile, molto sensibile anche su tessuto FFPE e consente in molti casi di ottenere informazioni sulla resistenza alla rifampicina.