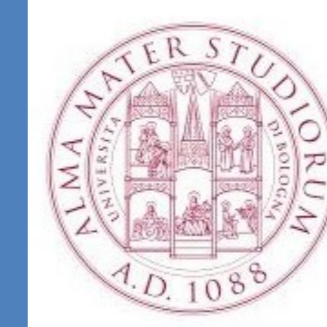


# RILEVAMENTO DI MYCOBACTERIUM CHIMAERA TRAMITE REAL-TIME PCR SU CAMPIONI DI ACQUA SANITARIA OTTENUTI DA SCAMBIATORI DI CALORE HCU

M. Borghi<sup>1</sup>, F. Bisognin<sup>1,2</sup>, G. Lombardi<sup>1</sup>, M. Faccio<sup>2</sup>, V. Ferraro<sup>1</sup>, P. Dal Monte<sup>1,2</sup>

SERVIZIO SANITARIO REGIONALE  
EMILIA-ROMAGNA  
Azienda Ospedaliero - Universitaria di Bologna  
IRCCS Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico

<sup>1</sup>Dipartimento di Scienze Mediche Chirurgiche - U.O. Microbiologia  
Azienda Ospedaliero-Universitaria S. Orsola-Malpighi, Università di Bologna  
<sup>2</sup>Alma Mater Studiorum, Università di Bologna

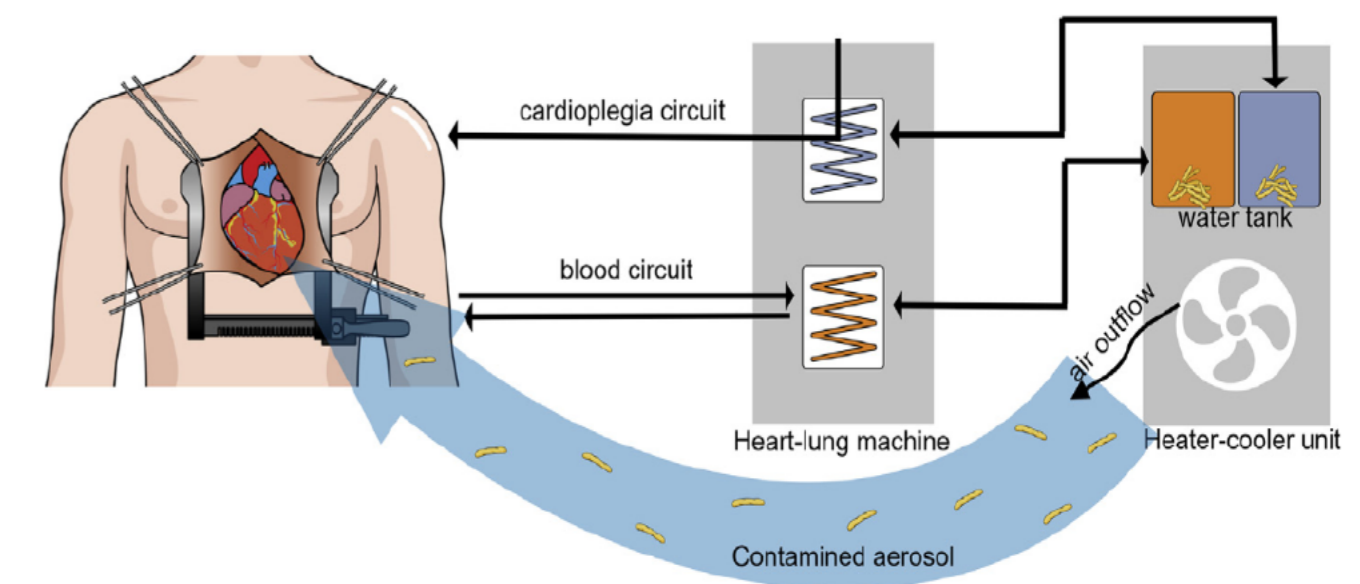


ALMA MATER STUDIORUM  
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

## INTRODUZIONE e SCOPO

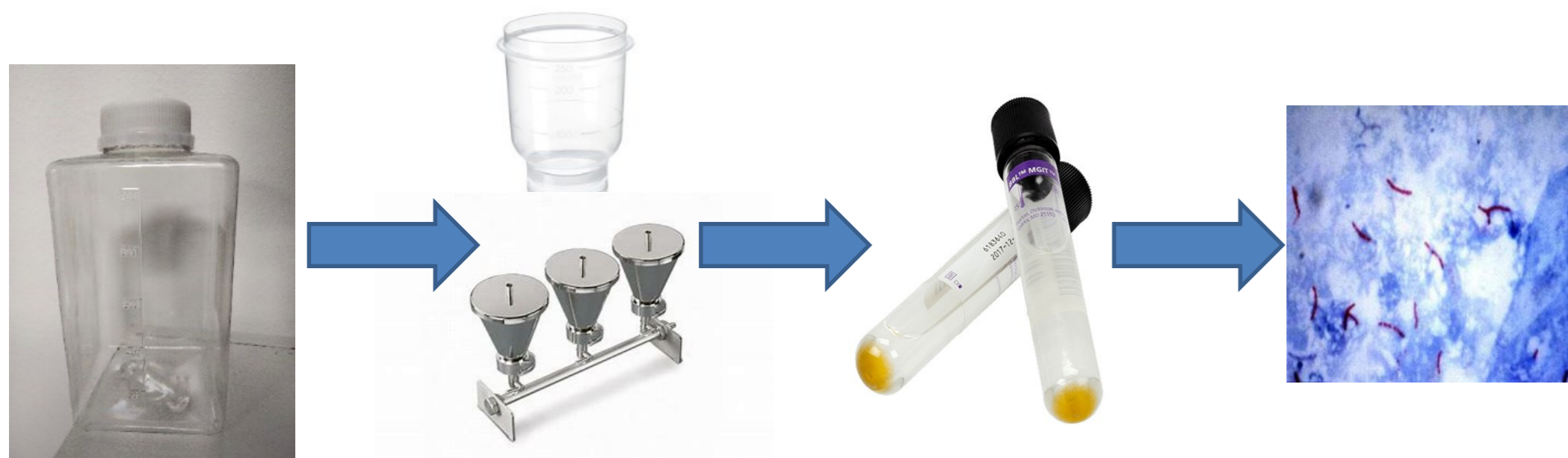
*Mycobacterium chimaera*, è un micobatterio non tubercolare (NTM) a lenta crescita che fa parte del *Mycobacterium avium complex* (MAC). Infezioni disseminate associate a *M. chimaera* sono state riscontrate e ricondotte all'utilizzo di dispositivi di raffreddamento/riscaldamento (Heater-Cooler Units, HCU) necessari a regolare la temperatura del sangue in circolazione extra corporea durante interventi cardiocirurgici, per cui la Regione Emilia Romagna ha avviato un programma di sorveglianza.

Il gold standard per la ricerca di *M. chimaera* è l'esame colturale, che tuttavia richiede lunghe tempistiche. Lo scopo di questo studio è la messa a punto di un test molecolare rapido e specifico di Real-Time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) per la detection di *M. chimaera* utilizzando la piattaforma InGenius (ELITechGroup, Italy).

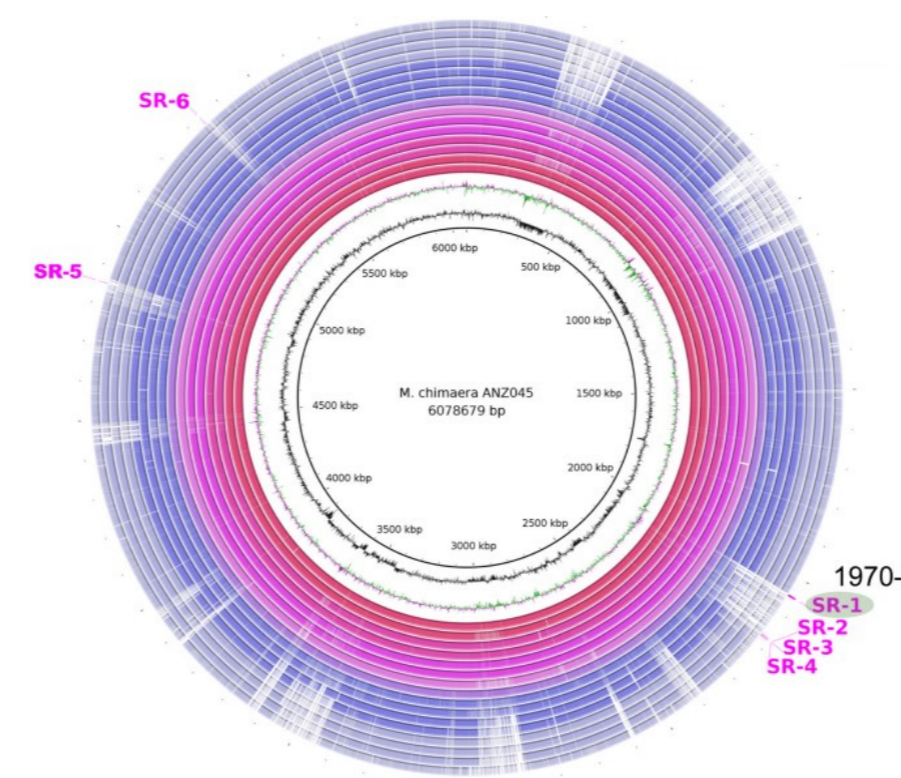


## MATERIALI E METODI

Un litro di ogni campione di acqua sanitaria (n. =285 campioni provenienti da HCU) è stato concentrato 100 volte filtrandolo tramite membrane di nitrocellulosa ( $\varnothing$  0,22  $\mu$ m), decontaminato con NALC-NaOH Solution (BD BBL MycoPrep™ System, USA) e seminato su terreno liquido MGIT (BD).



L'estrazione e l'amplificazione del DNA sono state eseguite sullo strumento InGenius, a partire dai campioni di acqua sanitaria decontaminati, prima della semina in coltura.



[Zozaya-Valdés et al., Journal of Clinical Microbiology, 2017]



ELITE InGenius® platform

## RISULTATI

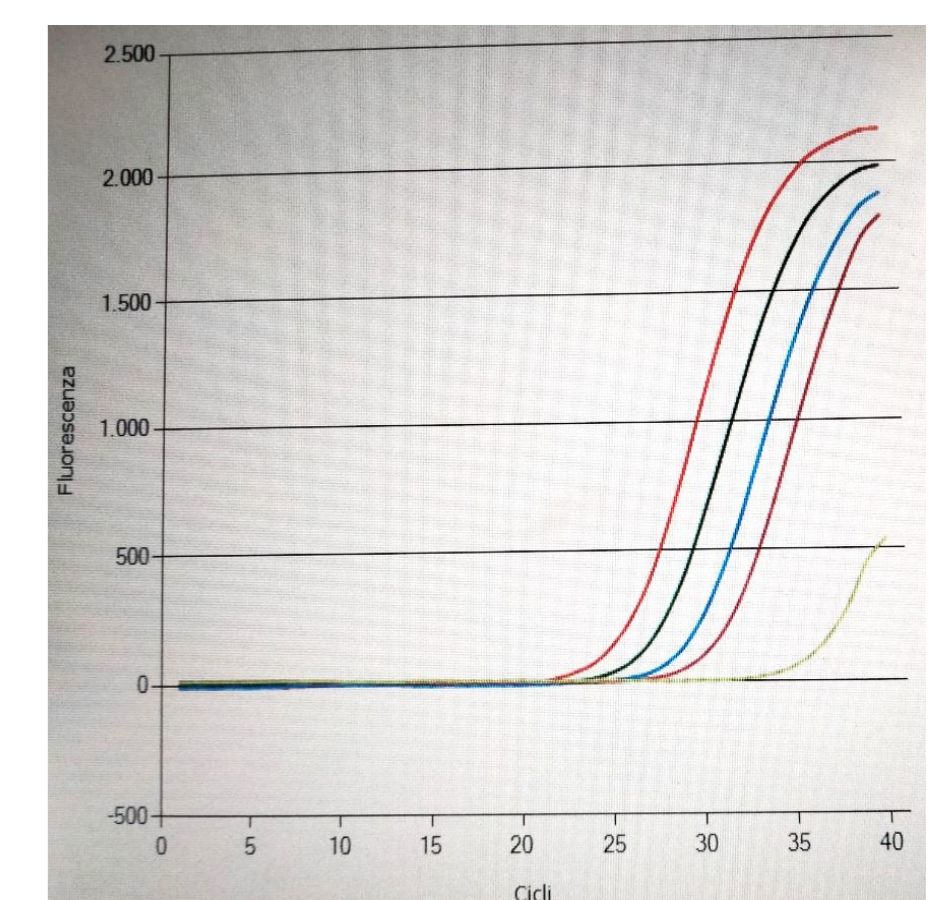
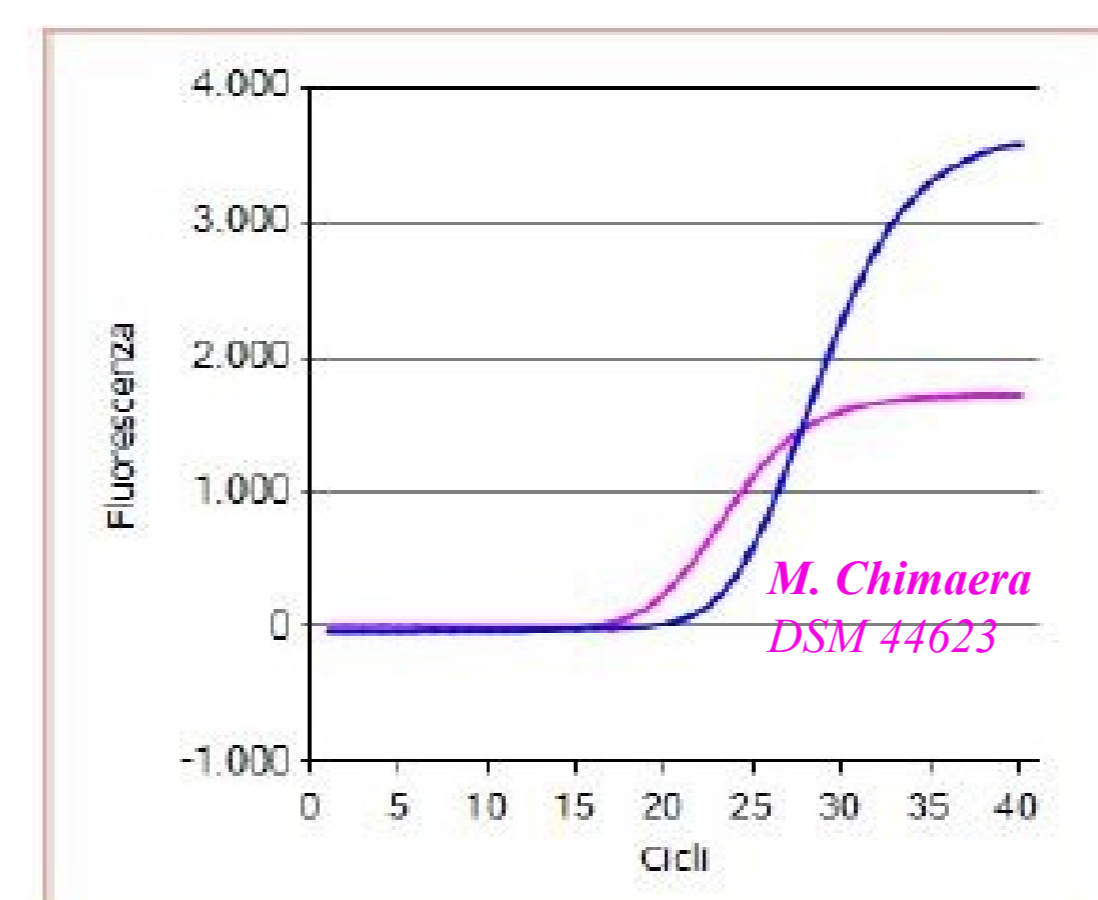
ACQUE SANITARIE (HCU)		INDAGINE COLTURALE MGIT™		TOTALE
		+	-	
Real Time- PCR ELITE InGenius®	+	75	2	77
	-	49	159	208
TOTALE		124	161	285

- La **sensibilità** della Real Time-PCR rispetto all'esame colturale positivo è **60,5%** (CI: 0,517-0,687).
- La **specificità** della Real Time-PCR rispetto all'esame colturale positivo è **98,7%** (CI: 0,956-0,997).
- Il **valore predittivo positivo** della Real Time PCR è **97,4%**.
- Il **valore predittivo negativo** della Real Time PCR è **76,4%**.

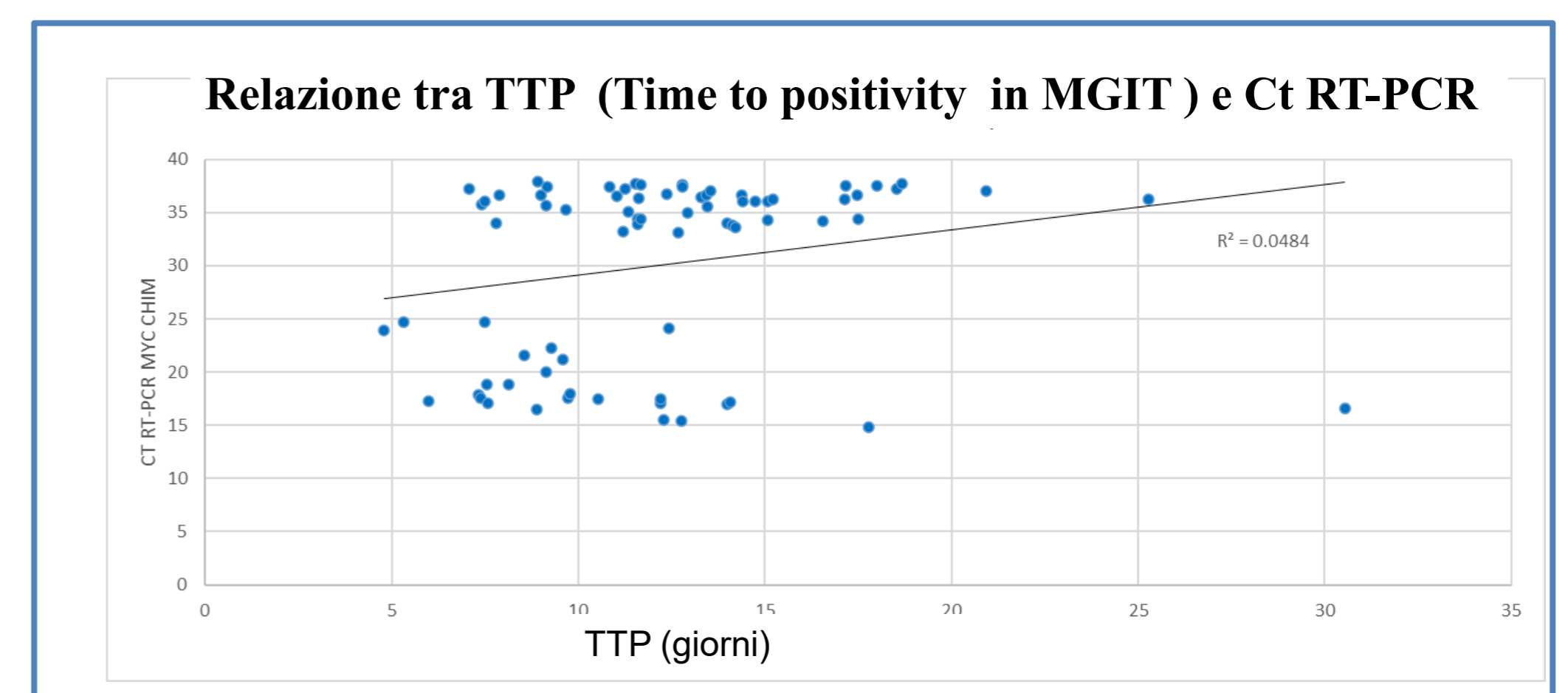
La **concordanza** tra il risultato della Real Time-PCR e l'esito dell'esame colturale è risultata quindi del **82,10%**. È stato calcolato l'indice K di Cohen per stabilire la **bontà della concordanza: 0,62 (buona concordanza)**.

**Non è stata osservata correlazione lineare ( $R^2 = 0,0484$ )** tra i TTP dei MGIT e i Ct della RT-PCR, tuttavia è stata osservata una differenza significativa (**p-value < 0.0001**) tra le medie dei TtP dei 75 campioni con la coltura liquida MGIT™ e il test molecolare positivi per *M. chimaera* (12,26 gg) e quella relativa ai 49 campioni risultati positivi alla coltura, ma negativi alla Real Time-PCR (16,22 gg).

È stata inoltre valutata la Limit of Detection (**LoD**) della RT-PCR attraverso l'allestimento di diluizioni seriali da  $10^8$  CFU/ml a  $10^1$  CFU/ml.



**LoD compresa nell'intervallo 1136- 3212 CFU/mL**



## CONCLUSIONI

Questo studio che ha previsto la raccolta e l'analisi di un elevato numero di campioni di acqua sanitaria provenienti da HCU della Regione Emilia-Romagna, ha confermato che il rilevamento di *M. chimaera* in Real Time-PCR può essere di utilità supportando le indagini colturali standard e riducendo le tempistiche necessarie per la rilevazione della positività, prevenendo il verificarsi di infezioni post operatorie nei pazienti sottoposti a interventi cardiocirurgici con l'utilizzo di scambiatori di calore. Tuttavia il test colturale resta il gold standard che deve sempre essere eseguito ed è imprescindibile in quanto i test molecolari potrebbero rilevare segmenti di DNA genomico appartenenti a microrganismi non vitali.