

# Utilità dell'amplificazione genica rapida (XPertMTB/RIF) per l'identificazione di *Mycobacterium tuberculosis*

Roberto Degl'Innocenti, Tamara Brunelli, Lorenzo Pellegrini, Daniele Ferri, Elisa Rovinati, Alfredo Ruggeri, Antonella Conti, Patrizia Casprini

Laboratorio Analisi Chimico Cliniche e Microbiologia, Ospedale S. Stefano, ASL4, Prato, Italy

## Summary

Use of XpertMTB/RIF for *Mycobacterium tuberculosis* identification.

In this study we describe the use of Xpert MTB/RIF to give a rapid answer in case of strong clinical suspicion of tuberculosis and/or positive microscopy slide, from sample or culture, for auramine-rhodamine stain.

## Introduzione

La diffusione del *Mycobacterium tuberculosis* è un problema di sanità pubblica che negli ultimi anni è aumentato di importanza a causa dei flussi migratori. La trasmissione per via aerea e la possibilità di diffondere al di fuori delle vie respiratorie rendono questo patogeno particolarmente insidioso. La diagnosi rapida è quindi essenziale sia dal punto di vista clinico, poiché permette di iniziare precocemente una terapia adeguata con maggiori possibilità di successo, sia da quello epidemiologico, perché si possono mettere in atto misure per interrompere la trasmissione. Dati della letteratura (1-3) indicano il test molecolare XpertMTB/RIF come sensibile e specifico per la rilevazione di *Mycobacterium tuberculosis* e della sua eventuale resistenza

Correspondence: Tamara Brunelli, Laboratorio Analisi Chimico Cliniche e Microbiologia, Ospedale S. Stefano, ASL4, Via Suor Niccolina 22, 59100 Prato, Italy.

Tel.: +39.0574.803823.

E-mail: tbrunelli@usl4.toscana.it

Key words: PCR, *Mycobacterium tuberculosis*, Xpert.

Contributions: the authors contributed equally.

Conflict of interests: the authors declare no potential conflict of interests.

©Copyright R. Degl'Innocenti et al., 2014

Licensee PAGEPress, Italy

Microbiologia Medica 2014; 29:4706

doi:10.4081/mm.2014.4706

This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Noncommercial License (by-nc 3.0) which permits any noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and source are credited.

alla rifampicina. Nel marzo 2012 il metodo XpertMTB/RIF è stato introdotto nel nostro laboratorio.

## Materiali e Metodi

Nel protocollo in uso, sui materiali (escreato, agoaspirato, urine, feci, liquidi cavitari) inviati per la ricerca del bacillo di Koch si esegue un vetrino per la colorazione con auramina-rodamina, una coltura su terreno solido (Lowestein-Jensen, Biolife) e una coltura su terreno liquido (MGIT, Becton Dickinson). Sui campioni positivi, vetrino o coltura, viene eseguita l'amplificazione genica (PCR) per la ricerca di *M.tuberculosis* (XpertMTB/RIF, Cepheid, Figura 1) e della resistenza alla rifampicina.

L'amplificazione si esegue anche nei campioni negativi all'esame microscopico in presenza di un forte sospetto clinico e su richiesta dello specialista.

## Risultati

Dal giugno 2012 al luglio 2013 sono stati valutati con questa metodica campioni provenienti da 108 pazienti.

Quarantasette (43.5%) campioni erano positivi per *M. tuberculosis* (4 resistenti alla rifampicina e 43 sensibili); di questi 19 avevano esame microscopico negativo e 28 positivo. Dei 19 negativi all'esame microscopico, 6 (8%) presentavano PCR positiva sul campione e sulla coltura mentre 13 solo sulla coltura. Gli altri 61 campioni avevano PCR negativa, eseguita sul campione stesso (60 con vetrino negativo e 1 con vetrino positivo); nel campione discordante è stata successivamente dimostrata la presenza di un micobatterio appartenente a una specie diversa da *M. tuberculosis*.

## Discussione

Questa metodica ci ha consentito di individuare soggetti positivi per *M. tuberculosis* in presenza di sospetto clinico ma con esame microscopico negativo, permettendo sia al paziente di iniziare la terapia immediatamente sia di interrompere la trasmissione del bacillo. In particolare, è da sottolineare che i 6 campioni con PCR diretta positiva erano 3 liquidi pleurici, 2 agoaspirato e 1 liquor, prelievi quindi di difficile ripetizione. In questi casi la possibilità di diagnosi sul singolo campione assume grande importanza.

Inoltre, in caso di esame microscopico positivo, è possibile, entro 3 ore, comunicare al clinico se si tratta di una infezione da *M. tubercu-*



Figura 1. Cartuccia e apparecchio Xpert.

*lisis* resistente o meno alla rifampicina e fornire una indicazione della carica batterica, indicata, dallo strumento come “low, high o medium”.

Nella nostra esperienza, XpertMTB/RIF è un metodo semplice e rapido e in grado fornire indicazioni anche in quei casi in cui l'esame

microscopico è negativo ovvero con crescita lenta o assente, ma con un sospetto clinico molto forte. La facilità di esecuzione e interpretazione lo rendono applicabile anche a laboratori di medie dimensioni, che altrimenti sono obbligati ad inviare i campioni a centri più grandi con tempi di risposta inevitabilmente più lunghi.

## Bibliografia

1. Boheme CC, Nabeta P, Hillermann D, et al. Rapid molecular detection of tuberculosis and rifampin resistance. *NEJM* 2010; 363: 1005-15.
2. Tortoli E, Russo C, Piersimoni C, et al. Clinical validation of Xpert MTB/RIF for the diagnosis of extrapulmonary tuberculosis. *Eur J Resp* 2012; 40: 442-7.
3. Weyer K, Mirzayev F, Migliori GB, et al. Rapid molecular TB diagnosis: evidence, policy making and global implementation of Xpert MTB/RIF. *ERJ* 2013; 42: 252-71.