

# GENEXPERT VS TBC

Ogni anno muoiono di tubercolosi un milione e mezzo di persone, anche se spesso per curarle sarebbe sufficiente un normale trattamento antibiotico. In una delle nazioni impegnate nella battaglia contro questa antica piaga incontriamo un imprevedibile eroe: un semplice test diagnostico.

**Jon Cohen**

Fotografie di Malcolm Linton

In una cartuccia (in blu, in primo piano) di GeneXpert è possibile individuare i batteri della TBC in meno di due ore. Le colture di campioni di espettorato (contenitori con tappi viola e verde) richiedono settimane.





Il sobborgo di KwaMsane giace tra le colline della provincia di KwaZulu-Natal in Sud Africa. Ad appena mezz'ora in direzione ovest, lungo l'autostrada che passa attraverso un parco ricreativo, spesso ci si trova a procedere accanto a elefanti, giraffe, zebre e rinoceronti. Qualche chilometro più a est si estendono le coltivazioni di canna da zucchero, che ondeggiando sotto il sole subtropicale sembrano riversarsi nell'Oceano Indiano. KwaMsane è splendida, ma ha uno dei tassi più elevati al mondo di tubercolosi multi-farmaco-resistente, una patologia spesso fatale.

È un giorno di novembre del 2011 quando la 25enne Jabu Ngcobo avverte una fitta al fianco e si reca all'ospedale di KwaMsane, che visto da fuori ha l'aspetto di un parcheggio per camper e roulotte. I rimorchi che costituiscono gli ambienti della clinica – qui si chiamano “parkhome”, case da parcheggiare – circondano un cortile coperto che funge da sala d'attesa, con i pazienti seduti su alcune sedie di plastica. «Me ne stavo lì pensando di essermi presa la TBC MDR (*multidrugresistant*), perché l'hanno avuta anche i miei due fratelli e mia sorella», racconta oggi Ngcobo.

I suoi fratelli seppero di questa pericolosa forma della malattia solo dopo le analisi del loro muco, i cui campioni dovettero però essere trasportati a Durban, quasi 300 chilometri più a sud. Lì in laboratorio venivano preparate le colture di *Mycobacterium tuberculosis*, fino a disporre di colonie sufficientemente estese da poterle sottoporre alle prove di suscettibilità ai diversi farmaci. Nella migliore delle ipotesi il test richiedeva sei settimane; in realtà, tenendo conto delle necessità di trasporto dei prelievi, degli arretrati di lavoro che pesavano sul laboratorio e dei ritardi nella refertazione, spesso trascorrevano tre mesi prima che i pazienti di una zona rurale come KwaMsane venissero a sapere se avrebbero potuto curarsi in modo relativamente semplice, assumendo antibiotici per sei mesi, o se viceversa per loro sarebbero stati necessari 18 mesi di cura a base di una batteria di farmaci molto potenti. Un ritardo che può fare la differenza tra un danno permanente al polmone, o addirittura il decesso, e una guarigione priva di conseguenze a lungo termine.

Ngcobo risultò veramente affetta da TBC farmaco-resistente, ma poté iniziare il trattamento il giorno successivo. Richard Lessells, il medico scozzese che ha curato lei e la sua famiglia all'ospedale di KwaMsane, osserva che, nel caso dei parenti di Ngcobo, i mesi di attesa senza un adeguato trattamento furono pagati a caro prezzo: uno dei fratelli ne uscì con il polmone leso, un danno da cui non guarirà più. Jabu, invece, a un mese dalla diagnosi aveva nel sangue un livello batterico trascurabile, perché per lei fu possibile una cura immediata a base di 22 pillole giornaliere più le iniezioni di farmaci anti-TBC.

La rapidità con cui la malattia della Ngcobo è stata diagnosticata e curata deriva da uno strumento diagnostico chiamato GeneXpert, collocato sul bancone di uno dei rimorchi e vagamente somigliante a una macchina per il caffè espresso. Il dispositivo è abbastanza semplice da utilizzare, anche se le avanzate diavolerie molecolari che servono a identificare il DNA del batterio *M. tuberculosis* sarebbero state inimmaginabili fino a pochi anni fa, almeno fuori da un attrezzatissimo laboratorio di biologia. Il tecnico addetto inietta un campione di espettorato del paziente in

una specie di cartuccia per stampante e la inserisce nella macchina, la quale scatena una reazione che amplifica gli eventuali e specifici frammenti del DNA di *M. tuberculosis*. Molecole fluorescenti si illuminano quando vengono in contatto con il DNA e la macchina misura questa fluorescenza, riportando l'informazione al computer. L'intero processo richiede appena un paio d'ore. GeneXpert è non soltanto in grado di evidenziare la presenza dei batteri che provocano la TBC, ma determina esattamente se il DNA batterico presenta le mutazioni che rendono la malattia resistente nei confronti dei farmaci consueti.

La tubercolosi, che di solito si propaga per via aerea, infetta un terzo della popolazione umana. Per la maggior parte degli individui è innocua e neppure ci si accorge di essersi stati contagiati. Per molte aree del pianeta si tratta di una patologia che ha un significato puramente storico. Ma in molte nazioni povere, in particolare del Centro e Sud dell'Africa, è ancora una malattia dalle proporzioni epidemiche. Nel 2011 una popolazione stimata in 8,7 milioni di individui si è ammalata di *M. tuberculosis*. Ogni anno muoiono di TBC circa 1,4 milioni di persone; l'unico agente infettivo più letale è il virus HIV.

Una delle fondamentali ragioni per cui l'epidemia è tuttora in atto è la mancanza di un metodo efficace ed economico per stabilire chi sia stato infettato. Ogni anno circa tre milioni di casi di TBC non vengono diagnosticati. Per alcuni non vengono mai eseguiti i necessari test, che altrettanto spesso risultano negativi per colpa di tecniche diagnostiche troppo antiquate. Tradizione vuole che per diagnosticare la TBC il campione di espettorato, colorato con dei pigmenti, venga osservato al microscopio alla ricerca dei batteri identificativi. Il test del "vetrino" è stato concepito 125 anni orsono, ma serve a individuare solo il 60 per cento dei casi e non può determinare i ceppi farmaco-resistenti.

Le prove basate su colture, per determinare la sensibilità ai vari farmaci, sono più precise, ma costano di più e richiedono la disponibilità di un laboratorio attrezzato, per cui si tende a utilizzarle meno frequentemente. Tutto ciò, secondo l'Organizzazione Mondiale della Sanità, si traduce in un 80 per cento di varianti farmaco-resistenti che non viene rilevato. L'insieme delle persone non diagnosticate costituisce a sua volta un vasto giacimento di batteri, incluse le varianti resistenti. L'infezione prospera passando da una comunità all'altra e devastando i soggetti più vulnerabili, come chi risulta già debilitato dall'HIV.

Questa mortale dinamica potrebbe venire interrotta dall'avvento di uno strumento diagnostico pratico, veloce e potente. Sviluppato da un consorzio pubblico-privato tra Università di medicina e odontoiatria del New Jersey, Fondazione per la diagnostica innovativa di Ginevra e Cepheid, azienda di Sunnyvale, in California, il sistema per il riconoscimento della TBC, GeneXpert, ha ricevuto nel dicembre del 2010 la certificazione dell'OMS. Qualche mese dopo il ministro sudafricano della Sanità, Aaron Motsoaledi paragonava la macchina a un «bazooka nella guerra contro la TBC», impegnandosi a collocarne una in ciascuno dei 52 distretti in cui è suddiviso amministrativamente il Sud Africa.

GeneXpert da solo non riuscirà a debellare l'estesa problematica della TBC in Sud Africa o altrove. Per questo occorrerebbe verosimilmente un potente vaccino combinato con farmaci molto più efficaci di quelli esistenti. Ma nel frattempo, per le aree falc-



Nomthandzau Elizabeth Mjwara soffre per una TBC farmaco-resistente, non diagnosticata per diversi mesi.

Iqbal Master, medico a Durban, in Sud Africa, guarda con favore a GeneXpert, ma non sottovaluta le sfide che la tecnologia comporta. (in basso) Un paziente affetto da TBC farmaco-resistente riceve la sua dose di iniezioni quotidiane presso l'ospedale King George V.





## Quasi tutto ciò che di positivo si può dire sulla TBC è inevitabilmente seguito da un “ma”.

diate dalla TBC, inclusi i sempre più numerosi casi di ceppi resistenti a un numero crescente di farmaci, questo tipo di strumento diagnostico è un fondamentale e indispensabile primo passo. Diferenziarlo in maniera capillare nell'ambito di una grande nazione come il Sud Africa, dove la grande parte della popolazione non ha accesso a cure mediche avanzate, rappresenta una duplice sfida sul piano logistico e finanziario. Ma il rischio di una operazione non riuscita sarebbe mortale. Per comprendere il significato della posta in gioco, vale la pena considerare l'episodio dell'epidemia causata da una variante da incubo della TBC, isolata a poche centinaia di chilometri da KwaMsane.

### Sogni che potrebbero realizzarsi

Uno degli aspetti più inquietanti della TBC è l'indifferenza con cui l'uomo affronta questa malattia. Troppo spesso i pazienti iniziano la cura, cominciano a sentirsi meglio e smettono di prendere le pillole, o le assumono sporadicamente. Tutto ciò crea le condizioni ideali perché possa svilupparsi la resistenza; infatti, i batteri con le mutazioni che li rendono meno suscettibili ai farmaci hanno più probabilità di sopravvivere al trattamento. Per non parlare dello scenario più preoccupante di tutti: una TBC MDR male diagnosticata o non completamente trattata può favorire l'insorgenza di mutazioni a “resistenza estesa” (XDR) in grado di passare indenni agli attacchi delle due principali famiglie di medicinali per la cura della TBC. L'avvento di un ceppo di questo tipo è stato segnalato per la prima volta nel 2006, nella provincia di KwaZulu del Natal.

Tugela Ferry, a quattro ore di macchina dal sobborgo di KwaMsane, è una cittadina nella parte centrale della provincia. Nell'agosto del 2006 è finita sulle prime pagine di tutto il mondo per la notizia di 52 pazienti di TBC deceduti sui 53 che si erano rivolti all'ospedale intitolato alla Chiesa di Scozia, dopo appena 16 giorni di ricovero. Le analisi successive evidenziarono che le vittime erano state colpite da un ceppo XDR del batterio. L'epidemia costrinse il Sud Africa a interrogarsi a fondo sulle lacune di politica sanitaria che avevano permesso lo sviluppo e la diffusione di batteri tanto aggressivi. Sul primo fronte di contrasto, era evidente la mancanza di strumenti diagnostici adeguati. Considerando che al meglio occorreva più di un mese per riconoscere una TBC farmaco-resistente, quei pazienti non avevano alcuna opportunità: tutti morirono prima di sapere che la loro era una forma letale della malattia.

Sulla scia degli avvenimenti di Tugela Ferry, le autorità hanno destinato alcuni reparti dell'Ospedale King George V di Durban, una struttura anti-TBC creata 75 anni fa, come presidio unico nei casi farmaco-resistenti, con il duplice scopo di migliorare le prospettive di trattamento e rallentare la diffusione della malattia. L'ospedale dispone di sette reparti con 32 letti ciascuno, uno dei quali esclusivamente riservato ai bambini. Per accedervi c'è una lista d'at-

tesa, anche se il medico preposto alla gestione di questo protocollo, Iqbal Master, si dice fiero dell'attuale capacità di ricoverare tutti i pazienti, compresi quelli con TBC XDR, entro poche settimane dopo la prescrizione. All'inizio del 2007 i ritardi arrivavano fino a quattro mesi e «i pazienti morivano mentre erano ancora in lista d'attesa».

Nomthandzau Elizabeth Mjwara, una donna di 48 anni affetta da HIV e TBC MDR, esprime grande riconoscenza per il posto letto assegnato sui 224 disponibili. Dopo essersi gravemente ammalata, ha lasciato trascorrere quattro mesi prima di chiedere assistenza, ricevere la diagnosi e ottenere il ricovero al King George per il trattamento. Molti dei pazienti infetti da HIV arrivano in ospedale a uno stadio talmente avanzato da vanificare anche il più adeguato dei trattamenti anti-TBC. Fortunatamente, malgrado la diagnosi molto ritardata, il sistema immunitario di Mjwara era ancora in grado di rispondere ai farmaci.

Malgrado l'atteggiamento ottimista di pazienti come lei e le cure di eccellenza somministrate dal King George, molti dei ricoverati soffrono di TBC molto avanzata e non ne escono vivi. Quelli che ce la fanno, come Mjwara, devono sopportare per diversi mesi dolorose iniezioni quotidiane di medicinali che possono provocare perdita dell'udito e psicosi.

Con un uso efficace di GeneXpert in tutto il Sud Africa, la pressione su ospedali come il King George si allenterà, riducendo la diffusione dei ceppi farmaco-resistenti. Tuttavia, quasi tutto ciò di positivo che si può dire, è inevitabilmente seguito da un “ma” e Master si affretta a sottolineare anche i limiti della tecnologia. Uno di questi limiti è di carattere tecnico. Le analisi basate su colture batteriche sono più accurate rispetto al sistema GeneXpert. Inoltre, la coltura resta l'unica soluzione per la precisa diagnosi della versione XDR della TBC. Infine, i progetti di diffusione su scala nazionale di questo apparato diagnostico stanno pesando sull'intero sistema sanitario sudafricano. Riuscire a identificare i focolai attivi della malattia porterà a molti vantaggi sul lungo termine, ma nell'immediato determina un forte aumento dei pazienti in attesa di trattamento. Gli studi citati da Master parlano di un possibile aumento del 500 per cento dei pazienti: «Ancora non sono stati del tutto risolti gli aspetti logistici di un efficace dispiegamento della tecnologia GeneXpert».

### In attesa di un vaccino

Anche se diverse aree del Sud Africa possono essere considerate benestanti, l'ospedale Prince Mshiyeni ci ricorda che la maggior parte del Paese versa in condizioni di povertà ed è priva di infrastrutture mediche moderne. Il Prince Mshiyeni Memorial ha 1.200 posti letto e i suoi ingressi presidiati da guardie danno accesso a stretti ambienti gremiti di malati, con folle di persone in perenne movimento lungo i corridoi. I medici di Durban che non lavorano per l'ospedale, levano lo sguardo al cielo quando ne sentono parlare e ultimamente la stampa sudafricana ha pubblicato storie di carenza di personale, lunghe attese negli ambulatori, falle nella sicurezza (compreso l'episodio della sparizione di un cadavere) e una epidemia che ha ucciso cinque neonati. Ma è all'interno di questa struttura che si trova la macchina GeneXpert più grande di tutta l'Africa. Inaugurata dal ministro della sanità Motsoale-



## Il costo di nuovi strumenti diagnostici è irrilevante rispetto alle spese per mesi di ricovero di un malato di TBC.

di in occasione della Giornata mondiale della TBC a marzo del 2011, la gigantesca attrezzatura è alta un paio di metri e si estende per una lunghezza di due metri e mezzo. È in grado di processare 48 cartucce alla volta, spostandole attraverso la macchina per mezzo di nastri trasportatori e un braccio robotico.

Qualche anno fa Motsoaledi ha partecipato a una efficace campagna di screening a livello nazionale, in cui 15 milioni di persone sono stati sottoposti a test per l'HIV e i casi con i sistemi immunitari più compromessi hanno potuto ricevere un trattamento anti-retrovirale. Oggi si dice ottimista sul fatto che GeneXpert "rivoluzionerà" anche il controllo della tubercolosi.

Disporre della macchina, però, non basta. In un giorno feriale dello scorso settembre, il dispositivo da 48 cartucce simultanee del Prince Mshiyeni Memorial ha funzionato con una sola cartuccia perché la rapida evoluzione delle procedure di analisi della TBC rischia di mandare in tilt l'intero sistema. Le cartucce compatibili con GeneXpert vengono acquistate da un unico fornitore che ha già fatto registrare diversi episodi di carenza di scorte. Stephen Carpenter, direttore sanitario del Don McKenzie Hospital di Botha Hills, alla periferia di Durban, sottolinea che «ci avevano promesso un dispiegamento delle apparecchiature a livello di provincia e distretto, ma ci sono stati vari ritardi di natura finanziaria e logistica».

Gregory Mkhize, tecnico di laboratorio dell'ospedale Prince Mshiyeni Memorial, mostra la più grande installazione di GeneXpert in tutta l'Africa. La macchina è in grado di processare 48 campioni per volta.

Nella pagina accanto: anche i rischi per il personale di laboratorio sono ridotti poiché GeneXpert non richiede la coltivazione dei batteri.

In effetti, le autorità sudafricane dovranno sostenere un grosso impegno economico per realizzare il progetto GeneXpert. Una macchina da quattro cartucce collegata a un computer da tavolo ha un prezzo di 17mila dollari e ogni singola cartuccia costa 10 dollari. Alcuni studi affermano che un test effettuato con GeneXpert costerà, tenendo anche conto del personale addetto e della manutenzione, 25 dollari a campione, contro i 3 dollari di un tampone di espettorato e i 12/16 di una coltura batterica. L'aumento dei costi è in parte compensato dal fatto che con GeneXpert l'analisi viene estesa alla farmaco-resistenza, che in un test convenzionale può arrivare a costare 72 dollari a campione, ma si stima che, qualora riuscisse a portare a termine i suoi piani sanitari, il Sud Africa dovrà spendere il 55 per cento in più per ogni caso di sospetta TBC.

Il lato positivo della medaglia è che il ritorno dell'investimento potrebbe risultare molto significativo poiché il costo del macchinario è assai inferiore alla spesa per mesi di ricovero in ospedale dei pazienti. «I costi diagnostici sono una frazione davvero piccola del piano di controllo della TBC e i vantaggi sono sostanziali», dice Mark Nicol, microbiologo clinico dell'Università di Cape Town e dei Laboratori di Sanità Nazionali, aggiungendo che «il Sud Africa sicuramente può permetterselo».

Nicol non è il solo a ritenere che il gioco valga la candela. «GeneXpert ha trasformato radicalmente il modo di diagnosticare



la TBC», concorda Nesri Padayatchi, un tempo responsabile dei reparti di TBC al King George V e presso il Centro per il programma di ricerca sull'Aids in Sud Africa. Anche qui ecco arrivare l'immancabile "ma": «Sarà possibile individuare tutti questi pazienti, ma così non affrontiamo il problema centrale». Medici come la Padayatchi sognano da sempre di disporre di farmaci più efficaci per la prevenzione e il trattamento di questa patologia. Il vaccino della TBC è stato introdotto quasi un secolo fa e viene ampiamente utilizzato, ma sulla sua efficacia le controversie sono così numerose che anche nazioni come gli Stati Uniti in genere evitano di indicarne la somministrazione. Al momento ci sono undici vaccini anti-TBC sottoposti a prove cliniche, a testimonianza del grande sforzo che negli ultimi dieci anni è stato fatto per rilanciare il settore della ricerca, ma nessuno è riuscito a ottenere la certificazione su larga scala. Secondo l'Organizzazione Mondiale della Sanità è improbabile che siano autorizzati vaccini prima del 2020.

Per quanto riguarda le terapie, sono almeno quarant'anni che sul mercato non emergono nuove famiglie di farmaci per la cura della TBC, anche se per la fine dello scorso anno era attesa la conclusione della sperimentazione umana per due nuovi principi attivi, forse entrambi efficaci contro i ceppi resistenti del batterio. Nove altre molecole stanno attraversando i vari stadi della sperimentazione sull'uomo, ma il loro futuro rimane incerto.

Le organizzazioni sanitarie internazionali hanno concordato un piano per l'abbattimento dei casi di TBC sotto la soglia di uno per milione di persone entro il 2050. Un obiettivo che corrisponderebbe a un calo dagli 8,7 milioni di casi registrati su scala mondiale a circa settemila. L'accordo precisa che il successo dell'iniziativa passa per una combinazione tra un vaccino veramente efficace e una classe di farmaci in grado di sconfiggere le varianti resistenti dell'*M. tuberculosis* nell'arco di due mesi di cure. Non c'è nessuna garanzia che entro il 2050 si arrivi a centrare questo obiettivo, ma GeneXpert può farci fare un passo avanti in un percorso di totale sradicamento della malattia su scala globale. ■

*John Cohen è corrispondente della rivista "Science". Ha scritto un libro sulla complessità delle ricerche per un vaccino contro l'AIDS, Shots in the dark.*

## Microfluidica per analisi mediche

Il sistema portatile Cepheid GeneXpert consentirà una migliore diagnosi di malattie polmonari nel Terzo Mondo.

**Samuel Sia**

Il sistema Cepheid GeneXpert è una piattaforma completamente integrata e automatizzata che rappresenta il "capofamiglia" dell'automazione nel mondo dell'analisi molecolare ed è in grado di fornire risultati accurati in modo rapido e con il minimo rischio di contaminazione.

Il sistema GeneXpert può evidenziare in poche ore la resistenza di un paziente a farmaci contro la tubercolosi. È abbastanza facile da usare, tanto da permettere la comprensione dei dati anche a infermieri, come spesso è richiesto nelle cliniche remote nel mondo in via di sviluppo, dove vive la popolazione più a rischio.

Dispositivi come il GeneXpert consentono per la prima volta, una corretta diagnosi precoce per molti pazienti affetti da tubercolosi che possono così essere trattati con farmaci in modo molto più efficace. Inoltre, possono venire utilizzati al di fuori dell'area del laboratori e ciò consente a medici e infermieri di fare diagnosi quasi ovunque.

Diverse start-up stanno lavorando secondo questo approccio basato sulla microfluidica, trattando i fluidi in canali che hanno meno di un millimetro di spessore. Questa tecnologia consente anche indagini più complesse, per esempio il rilevamento di resistenze multiple ai farmaci, che si verificano con sempre maggiore frequenza.

La ricerca di base sulla tecnica microfluidica portatile ha oramai fatto molta strada, ma ora è necessario qualcosa di più di una semplice soluzione scientifica dei problemi, come mostra il sistema GeneXpert. Lo sviluppo di un sistema compatto di monitoraggio della salute portatile richiede di ragionare in termini nuovi sul fronte della robustezza e della facilità di utilizzo e questa è una sfida nuova per un settore che non ha nessuna tradizione nella produzione di beni di consumo.

