

PERFORMANCE DEL KIT QUANTY TOXO NELLA DIAGNOSI DI TOXOPLASMOSI

F. Genco², M. Prestia⁴, A. Marzorati³, D. Russo³, V. Meroni¹

¹ SC Microbiologia e Virologia Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo Pavia; Dipartimento Medicina Interna e Terapia Medica Università di Pavia

² SC Microbiologia e Virologia Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo Pavia

³ Clonit srl Via Bernardo Quaranta 57 Milano (info@clonit.it)

⁴ Direzione Scientifica - Servizio di biometria e statistica Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo Pavia

INTRODUZIONE

La ricerca del DNA di *Toxoplasma gondii* mediante Polymerase Chain Reaction (PCR) viene impiegata nella diagnosi di toxoplasmosi congenita, oculare e nel paziente immunocompromesso. Nel paziente immunocompromesso, però, l'impatto della diagnosi molecolare non è ancora stato definito come nella diagnosi della toxoplasmosi congenita, e la valutazione di un kit quantitativo potrebbe essere utile nel monitoraggio del paziente immunocompromesso con infezione/riattivazione della toxoplasmosi sottoposto a terapia specifica. Con questo studio abbiamo voluto valutare le performance analitiche del test quantitativo quanty-Toxo (Clonit srl, Milano) su campioni di liquido amniotico e sangue intero.

METODI

Con il nuovo kit quanty TOXO (Clonit srl, Milano), che permette la rilevazione e quantificazione mediante metodica Real Time PCR della regione genomica 529-bp repeat region (ripetuta 200-300 volte) di *T. gondii*, sono stati valutati: 55 campioni di liquido amniotico, da gravide con un sospetto di toxoplasmosi, e 59 campioni di sangue periferico in EDTA negativi per la ricerca di DNA di *Toxoplasma gondii* con il kit TOXOPLASMA g ELITE MGB (ELITechGroup SPA Torino) in uso presso il laboratorio. Gli stessi campioni sono stati positivizzati con il "1st WHO International Standard per *Toxoplasma gondii* (NIBSC code: 10/242)".

Il DNA è stato estratto da tutti i campioni con EZ1 Advanced XL (QIAGEN) e poi amplificato su Rotor-Gene Q MDX (Qiagen). Per valutare possibili cross reattività sono stati testati anche campioni positivi alla ricerca di DNA di *Leishmania* spp e *Palismodium* spp. Lo studio è stato approvato dal Comitato di Bioetica della Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo di Pavia.

RISULTATI

Per quanto riguarda i campioni negativi il kit quanty TOXO ha rilevato negativi 54 campioni su 55 di liquido amniotico con una specificità del 98.2% e 58 campioni di sangue su 59 con una specificità del 98.3%. Invece, per quanto riguarda i campioni positivizzati, il kit quanty TOXO ha rilevato positivi 50 liquidi amniotici su 51, con una sensibilità del 98.1%, e tutti e 48 i campioni di sangue con una sensibilità del 100%. Inoltre, non si è avuta nessuna cross reattività rilevabile sui campioni positivi per altri patogeni. Utilizzando lo stesso standard di riferimento, positivizzando campioni negativi, è stato possibile verificare la sensibilità del kit diagnostico che risulta essere in grado di quantificare correttamente fino a 5 Toxo/ml (equivalenti a 5UI/ml).

CONCLUSIONI

Al fine di ottenere una standardizzazione delle concentrazioni di *Toxoplasma* rilevabili è stato utilizzato, come materiale di riferimento, il controllo positivo "1st WHO International Standard for *Toxoplasma gondii* (NIBSC code: 10/242)". L'utilizzo di tale controllo ha inoltre permesso di definire il fattore di conversione tra Toxoplasmi/ml e IU/ml. I risultati ottenuti mostrano una buona sensibilità, specificità ed accuratezza che, associati alla possibilità di quantizzare il "parasitic load", rendono il kit quanty TOXO un ottimo candidato nel monitoraggio del paziente immunocompromesso.