

DOSAGGIO DI HIV-RNA SU LIQUOR CEFALORACHIDIANO: UN CONFRONTO TRA METODI

D. Cirasola¹, E. Biondi¹, O. Turri¹, S. Mazzola¹, M. Bernini¹, A. Rizzo¹, E. Merlini², M.L. Biondi¹

¹LABORATORIO CHIMICA CLINICA E MICROBIOLOGIA, OSPEDALE S. PAOLO, ASST SANTI PAOLO E CARLO, MILANO

²REPARTO MALATTIE INFETTIVE, DIPARTIMENTO SCIENZE DELLA SALUTE, UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI MILANO

INTRODUZIONE

I sintomi neurologici dell'infezione da HIV possono essere la prima manifestazione di AIDS. Essi, a volte poco marcati e difficilmente riconoscibili, sono spesso associati a livelli misurabili (> 200 copie/mL) di HIV RNA nel Liquor Cefalorachidiano (LCR). La determinazione dei livelli liquorali di HIV RNA assume quindi particolare rilevanza. Nel nostro Laboratorio misuriamo con ottime performance HIV RNA sul Sistema m2000 (Abbott), che permette di ottenere il risultato in un tempo totale di 5 h e 30'; per evitare però un eccessivo spreco di reattivo si devono dosare nella stessa seduta almeno 10-12 campioni. Inoltre i campioni di liquor, che per criticità di prelievo possono pervenire in diversi momenti della giornata, non possono essere sempre inseriti nella routine giornaliera. Per questo abbiamo voluto testare l'affidabilità del dosaggio di HIV RNA liquorale con il Sistema Cepheid Gene Expert (Xpert) a cartuccia singola

METODI

abbiamo analizzato 22 campioni di liquor prelevati da giugno 2014 ad agosto 2016 già dosati con m2000 di cui 5 "negativi" (3 non rilevabili, 2 <40 copie/mL, limite di sensibilità per entrambe le metodiche), 17 positivi con range di concentrazione tra 360 e 312000 copie/mL. I campioni sono stati portati con soluzione fisiologica al volume di 1100 ul ed immediatamente analizzati. La durata dell'Analisi è di 1h e 35'.

RISULTATI

i 3 campioni "non rilevabili" (NR) si sono confermati tali con Gene Expert. I 2 campioni "<40 copie/mL" hanno invece dato risultati diversi: 1 si è confermato <40, l'altro è risultato NR. Di quest'ultimo campione abbiamo estrapolato dalla curva di calibrazione di m2000 la possibile concentrazione che è risultata pari a 11 copie/mL. Per i 17 campioni positivi abbiamo ottenuto i seguenti risultati: in 10 campioni la variazione era compresa in 0,2 log, in 4 campioni era compresa in 0.5 log, in 3 campioni risultava superiore a 0.5 log (-0.6; -0.56; +0.52); questi ultimi 3 campioni sono quelli per i quali si è dovuti ricorrere ad una diluizione più spinta a causa della scarsità del volume disponibile. Il coefficiente di correlazione lineare è risultato pari a 0.95

CONCLUSIONI

Alla luce dei dati ottenuti riteniamo assolutamente accettabile l'affidabilità del Sistema Gene Expert anche se ci proponiamo di aumentare la numerosità del nostro studio con campioni freschi e per i quali si possa utilizzare una diluizione meno spinta. I principali vantaggi del Sistema Gene Expert sono dati dalla velocità di reazione, dalla assoluta facilità di allestimento del dosaggio (nessuna preparazione dei reattivi), dall'assenza di spreco di reattivi e quindi possibilità di analizzare anche un singolo campione al bisogno. Inoltre non è necessario analizzare Controlli di Qualità in quanto già contenuti nelle singole cartucce di reazione.

Il principale svantaggio è dato invece dal volume richiesto per la reazione difficilmente presente nei campioni di LCR che obbliga quindi una diluizione del campione stesso. Questo può costituire un problema soprattutto quando sullo stesso campione è richiesto il dosaggio di altri virus.