P195

Virologia

CONFRONTO DI DUE METODI MOLECOLARI NELLA RILEVAZIONE DI VIRUS RESPIRATORI

M. Raggi [1], S.M.I. Malandrin [1], M. Brenna [1], A. Di Staso [1], G. Gandini [1], M. Manenti [1], F. Mariani [1], E. Ponti [1], M. Arosio [1], A. Cavallero [1]

[1]*ASST - Monza e Brianza - Ospedale San Gerardo - S.C. Microbiologia e Virologia*

INTRODUZIONE

Il laboratorio gioca un ruolo chiave nella diagnosi di infezioni virali del tratto respiratorio, ma la loro complessità costituisce una sfida per i test molecolari, a causa dell'elevato numero di virus coinvolti e l'incapacità del metodo di distinguere tra vere infezioni e colonizzazioni.
Obiettivo del nostro studio è un confronto tra due differenti multiplex real-time PCR per l'identificazione di virus da campioni respiratori durante l'inverno del 2017.

METODI

Un totale di 84 campioni tra tamponi nasofaringei, aspirati e lavaggi broncoalveolari sono stati ottenuti da pazienti ricoverati presso l'ASST-Monza – Ospedale San Gerardo durante gennaio e febbraio 2017.
I due kit ricercano entrambi Influenza (A, B, H1N1, H3), Parainfluenza (1, 2, 3, 4), RSV (A e B), Adenovirus, Rhinovirus (A, B, C), Enterovirus, Coronavirus (229E, NL63, HKU1, OC43), Metapneumovirus. Il kit Seegene rileva anche Bocavirus.
Con entrambi i sistemi si è utilizzato NucliSENS easyMAG (BioMerieux) per l'estrazione degli acidi nucleici.
Per il kit Allplex Respiratory Panel Assays (Seegene) multiplex real-time PCR, l'amplificazione è stata eseguita secondo le specifiche del produttore con termociclatore CFX96 (BioRad).
Per il kit HP - Virus Respiratori (AusDiagnostics) multiplex nested real time PCR, l'amplificazione è stata eseguita con Easy-Plex 384 High-Plex System.

RISULTATI

Seegene: 36 campioni positivi per 1 target, 9 positivi per 2 o più, 39 negativi. L'influenza-A (H3) è stato il target rilevato con più frequenza (15), seguono RSV-A (13) e RSV-B (11).
AusDiagnostics: 25 campioni positivi per 1 target, 24 positivi per 2 o più, 35 negativi. RSV-A è stato il virus rilevato con più frequenza (14), seguono RSV-B e l'influenza-A (11 per entrambi). Coronavirus NL63 è stato rilevato in 29 campioni con una bassa carica virale nel 93% dei casi.
Confrontando i risultati grezzi, 34 erano completamente concordanti (40,5%), 40 erano parzialmente concordanti (46,6%) e 10 completamente discordanti (11,9%). Dopo aver impostato una soglia di positività al fine di eliminare valori incerti, i concordanti erano 68 (81%), mentre sia i parzialmente concordanti sia i completamente discordanti erano 8 (9,5%).

CONCLUSIONI

Entrambi i metodi mostrano una buona performance e un TAT inferiore alle 3 ore per ogni campione. Anche se i metodi sono solo semi-quantitativi, le differenze maggiori sono state trovate nei campioni con bassa carica virale. In assenza di un metodo di riferimento con cui confrontarsi, le basse soglie di positività di entrambi i metodi possono portare ad identificare un elevato numero di campioni positivi, pertanto è consigliabile effettuale un'analisi del significato clinico sui campioni con bassa carica virale per riconoscere i pazienti infetti.