P232

VIROLOGIA

IDENTIFICAZIONE DI POSSIBILI MATRICI BIOLOGICHE ALTERNATIVE E PROTOCOLLI PER LA DIAGNOSI RAPIDA DI INFEZIONE DA PARECHOVIRUS.

C. Tiberio [4], N. Cuomo [4], M. D'Avenia [1], E. Falco [4], M. Grimaldi [4], A. Saraiello [4], M.R. Ingenito [2], A. Di Toro [2], C. Tascini [3], L. Atripaldi [4]

[1]*Biouniversa, Università di Salerno*

[2]*Patologia neonatale, AORN Santobono, Napoli*

[3]*UOC Malattie Infettive ad Indirizzo Neurologico, PO Cotugno, Napoli*

[4]*UOC Microbiologia e Virologia, A.O. dei Colli, Napoli*

INTRODUZIONE

Il parechovirus umano (HPeV) è responsabile di infezioni virali potenzialmente gravi nei neonati. Esistono 19 genotipi di HPeV e causano diverse sintomatologie; gastrointestinali, respiratorie, infezioni del SNC o sepsi virale, con elevato rischio di sequele a lungo termine. Considerata l'importanza dell'infezione da HPeV nei neonati, le linee guida raccomandano di includere nella pratica standard le tecniche diagnostiche molecolari per la diagnosi precoce. Lo scopo di questo studio è stato quello di valutare se al fine di una identificazione rapida e poco invasiva dell'infezione da HPeV e di monitorare la remissione dall'infezione, e le fasi infettive, fosse possibile isolare e rilevare la presenza del virus in matrici diverse dal liquido cerebrospinale (CSF), quali sangue intero, tampone naso faringeo (NPS), tampone rettale ed urine, usando il sistema diagnostico rapido presente in routine, Filmarray ME Panel, certificato CE esclusivamente su CSF.

METODI

Nella UOC di Microbiologia e Virologia del PO Cotugno, nel mese di luglio del 2019 sono state effettuate 2 diagnosi consecutive di meningite da HPeV in neonati ricoverati presso il reparto di Patologia Neonatale del P.O. Santobono, usando 200 microlitri di CSF e il kit Filmarray ME Panel (Biomerieux) sistema in grado di purificare gli acidi nucleici, retrotrascrivere, amplificare e rilevare 14 target virali e batterici contemporaneamente. Al fine di rilevare la presenza del virus nelle matrici sperimentali, l'RNA è stato estratto usando il protocollo standard dello strumento easyMAG (Biomerieux) partendo da 400 microlitri di sangue intero, da tampone rettale e NPS stemperati in 700 microlitri di NUCLISENS easyMAG Extraction Buffer 3, da 1 mL di urine concentrate partendo da un volume di 7 ml. L'RNA è stato eluito in un volume finale di 200 microlitri ed utilizzato per l'amplificazione del target mediante FilmArray ME Panel. Come controllo negativo è stato eseguito lo stesso protocollo partendo da 700 microlitri di acqua RNAse free.

RISULTATI

Nel CSF, sangue intero, tampone rettale, NPS è stato possibile rilevare la presenza del HPeV nell'arco di tempo compreso tra 1 e 2 ore, a seconda della matrice utilizzata. Da urine il risultato è stato negativo. Le prove effettuate hanno permesso di rilevare rapidamente la presenza del virus, previo isolamento dell'RNA, in matrici alternative facilmente reperibili e campionabili.

CONCLUSIONI

E`stata già riportata in letteratura nel 2013 la possibilità di identificare la presenza di HPeV in CSF, sangue, feci, urine e NPS mediante RT-PCR tradizionale, riportando per ogni matrice una sensibilità rispettivamente dell'84%, 79%,95%, 57% e 64%. Con il metodo messo a punto il tasso di positività sembra essere migliorato, ad esclusione delle urine. Il sistema usato è, a nostro avviso, rapido, semplice da usare ed adatto alle diagnosi di urgenza. L'analisi di un maggior numero di campioni, provenienti da più pazienti, permetterà una validazione interna del metodo per un eventuale uso in routine.