P210

VIROLOGIA

CONFRONTO TRA DUE SISTEMI DI ONE STEP REAL-TIME PCR PER LA DIAGNOSI MOLECOLARE DEL VIRUS DEL MORBILLO

L. Bordi [1], A. Bressan [2], F. Colavita [1], C. Castilletti [1], M.R. Capobianchi [1], E. Lalle [1]
[1]*Istituto Nazionale per le Malattie Infettive "L. Spallanzani", IRCCS, Roma, Italia*
[2]*Università di Roma "La Sapienza", Roma, Italia*

INTRODUZIONE

Dal 2015 il Laboratorio di Virologia dell'Istituto Nazionale per le Malattie Infettive "L. Spallanzani" (INMI) di Roma è designato come "Laboratorio di riferimento regionale per il sistema di sorveglianza relativo a morbillo e rosolia"; come tale, il laboratorio è chiamato a confermare tutti i casi sospetti di Morbillo della regione Lazio, mediante test sierologici e molecolari. Per la diagnosi molecolare del virus del Morbillo (MV), presso il Laboratorio dell'INMI è in uso una one step real-time PCR sviluppata dalla Liferiver e commercializzata dalla DID Diagnostics.
In questi anni il panorama commerciale di kit one step real-time PCR per Morbillo si è ampliato notevolmente. A tale proposito abbiamo testato una nuova one step real-time PCR sviluppata dalla Fast Tract Diagnostic e commercializzata dalla Siemens Healthcare Diagnostics, analizzando retrospettivamente campioni biologici pervenuti in Laboratorio come casi sospetti di Morbillo e confermati con il sistema della Liferiver.

METODI

Campioni di RNA estratto da sangue e da pellet di urine di 64 pazienti con sospetta infezione da MV (4 sangue e 60 pellet di urine), precedentemente testati con il sistema della Liferiver e conservati a -80°C, sono stati scongelati e utilizzati per valutare la sensibilità diagnostica della Fast Tract one step real-time PCR. I due sistemi utilizzano differenti volumi di estratto da amplificare (5ul per la Liferiver e 10ul per la Fast Tract), con paragonabili tempi di amplificazione. Entrambi i kit sono stati testati utilizzando come strumento di amplificazione il QuantStudio 5 Real-Time PCR System (Thermo Fisher).

RISULTATI

I due metodi molecolari hanno mostrato gli stessi risultati con una concordanza del 100% (Cohen's k=1). In particolare, 3 campioni di sangue e 53 pellet di urine sono risultati positivi, mentre 1 campione di sangue e 7 pellet di urine sono risultati negativi.
Considerando che i campioni testati con il sistema Fast Tract sono stati ulteriormente scongelati prima di essere testati e che questo sistema utilizza il doppio del volume di estratto da amplificare rispetto alla Liferiver, i valori dei Ct di tutti i campioni sono risultati sovrapponibili (media ± deviazione standard: Liferiver 25 ± 4.9 vs Fast Tract 23.85 + 4.7; p-value=0.1856).

CONCLUSIONI

I nostri risultati mostrano una paragonabile sensibilità diagnostica tra i due metodi nella rilevazione molecolare del MV. Ulteriori approfondimenti nella valutazione della sensibilità analitica si potrebbero effettuare avendo a disposizione uno standard a concentrazione nota.