

ANALISI DELLA PERFORMANCE DEI SISTEMI MULTIPLEX INGENIUS ELITE PER LA DIAGNOSI BIOMOLECOLARE DI GASTROENTERITE VIRALE

S. De Grazia¹, F. Bonura¹, V. Cappa¹, S. Li Muli¹, A. Pepe¹, C. Filizzolo¹, L. Mangiarracina¹, N. Urone¹, G.M. Giammanco¹

¹AOUP "P. Giaccone", UOC Analisi Microbiologiche - Dipartimento di Scienze per la Promozione della Salute e Materno Infantile "G.D'Alessandro", Università di Palermo

INTRODUZIONE

Rotavirus (RV), adenovirus (AdV), norovirus (NoV) e astrovirus (AstV) sono importanti patogeni gastroenterici responsabili di casi sporadici ed epidemici di gastroenterite acuta. L'identificazione rapida e accurata dei virus enterici rappresenta ancora una sfida per i laboratori di microbiologia clinica. Recentemente, sono state commercializzate diverse piattaforme molecolari per il rilevamento del genoma di virus gastroenterici in campioni fecali.

Scopo di questo studio è stato quello di valutare la performance di due nuovi pannelli multiplex Real-time PCR per la rivelazione del genoma di NoV di genogruppo GI e GII (Norovirus (NV) ELITE MGB® test) e di RV, AdV e AstV (Gastrointestinal viral panel (GV) ELITE MGB®) sullo strumento automatizzato InGenius ELITE, che provvede sia all'estrazione che all'amplificazione del bersaglio mediante Real-time-PCR.

METODI

Una collezione di 258 campioni fecali, ottenuti da bambini ospedalizzati per gastroenterite, è stata analizzata utilizzando i pannelli diagnostici NV e GV ELITE su piattaforma InGenius (120 campioni testati con NV ELITE e 138 con GV ELITE). Tutti i campioni erano stati precedentemente sottoposti alla ricerca del genoma di NoV e RV mediante Real-time PCR, di AstV mediante PCR convenzionale e di antigeni di AdV mediante immunocromatografia. Per la creazione dei pannelli da sottoporre ad analisi sono stati selezionati 75 campioni negativi per tutti i target e 183 campioni positivi per uno o più virus enterici. Tutti i campioni positivi selezionati erano stati genotipizzati mediante sequenziamento.

RISULTATI

I nostri risultati mostrano che i test NV e GV ELITE InGenius hanno una sostanziale concordanza con i metodi di riferimento (k di Cohen >0.95) e una sensibilità e specificità del 100% e 95,7% per NoV, 100% e 98% per RV, 100% e 100% per l'AdV, e 97% e 100% per l'AstV, rispettivamente. Entrambi i pannelli diagnostici presentano una maggiore sensibilità analitica rispetto alle Real-time PCR di riferimento per NoV e RV (valore medio Ct NoV ELITE 17,5 vs 19,5; Ct GV ELITE 21,6 vs 23,2). Tutti i siero/genotipi virali presenti nei pannelli diagnostici utilizzati (un genotipo di NoV di genogruppo GI e sei GII, sei genotipi di RV, due genotipi di AstV e AdV di sierotipo 40/41) sono stati correttamente rivelati mediante le multiplex in esame.

CONCLUSIONI

Questi risultati suggeriscono che entrambe le metodiche InGenius NV e GV possono essere utilizzate come validi metodi per una diagnosi accurata di gastroenterite epidemica e sporadica.

Tuttavia, ulteriori studi saranno necessari al fine di determinare i valori di Ct cut-off più opportuni per una corretta correlazione tra livelli di cariche virali e diagnosi di malattia.