

QUANTIFICAZIONE DEL DNA CELLULARE IN CAMPIONI RESPIRATORI PER LA NORMALIZZAZIONE DELLA CARICA VIRALE: REALE NECESSITÀ?

F. Giardina², A. Piralla², F. Rovida², G. Campanini², F. Baldanti¹

¹Dipartimento di Scienze Clinico-chirurgiche, Diagnostiche e Pediatriche, Università di Pavia, Pavia

²Unità di Virologia Molecolare, Dipartimento di Microbiologia e Virologia, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia

INTRODUZIONE

Le infezioni dell'apparato respiratorio hanno un elevato impatto sociale ed economico, con un'elevata incidenza di ospedalizzazioni e costi. La raccolta di campioni respiratori adeguati rappresenta quindi una fase fondamentale ai fini di una corretta diagnosi di infezione da virus respiratori.

Gli scopi di questo studio retrospettivo sono: I) verificare la quantità delle cellule raccolte ottenute tramite prelievo con una tampone floccato dal tratto respiratori nasale, II) valutare la normalizzazione della carica virale sulla base del numero di cellule, III) comparare la cinetica dell'infezione ottenuta da cariche virali normalizzate e non normalizzate.

METODI

Il numero di cellule è stato quantificato attraverso una real-time PCR che amplificava un frammento del gene umano costitutivamente espresso eseguita su estratto di tamponi nasali testati per la ricerca di virus respiratori e conservati alla temperatura di -80°C in terreno di trasporto universale (Universal Transport Medium, UTM™) presso la UOS di Virologia Molecolare della Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo di Pavia.

RISULTATI

Complessivamente sono stati inclusi nello studio 739 campioni. Di questi, 513 (69.4%) campioni erano positivi per la presenza di uno o più virus respiratori, mentre 226 (30.6%) erano negativi. Complessivamente è stata rilevata una quantità mediana di cellule pari a 4.42 log₁₀ copie di DNA/ml di UTM™ (range 1.17-7.26). Nei campioni positivi per virus respiratori è stata osservata una quantità di cellule significativamente più alta rispetto ai campioni negativi (4.75 vs 3.76 log₁₀ copie di DNA/ml di UTM™; p<0.001). Nei campioni positivi, le cariche virali sono state espresse con due metodiche differenti: normalizzando sul volume di campione (log₁₀RNA copies/ml of UTM™) oppure sul numero di cellule (log₁₀ copie RNA/quantità mediana di cellule). I due valori ottenuti sono stati confrontati per tutti i 513 campioni positivi con un test di correlazione di Spearman (ρ=0.89, p<0.001) e un'analisi di regressione lineare (R²=0.82). Entrambi i test hanno dimostrato come i valori confrontati avessero una buona correlazione con un incremento lineare statisticamente significativo. Inoltre, in 8 episodi di infezione in cui erano disponibili più campioni in follow-up è stata comparata la cinetica della carica virale con entrambi i metodi. E' stata osservata una differenza mediana di -0.57 log₁₀ (range -1.99 to 0.40) con tuttavia una cinetica con lo stesso andamento negli 8 episodi.

CONCLUSIONI

La normalizzazione della carica virale sulla base della quantità di cellule conferma la validità dei risultati ottenuti con la real-time PCR nella diagnosi delle infezioni virali. Tuttavia data la significativa sovrapposizione dei risultati la normalizzazione basata sul numero di cellule non sembra risultare necessaria. In aggiunta, l'eventuale introduzione di questa normalizzazione sarebbe in ogni caso fonte di incremento di spesa per la diagnostica dei virus respiratori.