

CONFRONTO DI METODI MOLECOLARI IN-HOUSE E DEL COMMERCIO PER LA RILEVAZIONE E QUANTIFICAZIONE DELLA VIREMIA DI TORQUETENOVIRUS (TTV)

L. Macera², E. Rofi⁴, M. Del Re⁴, P. Spezia¹, C. Medici⁵, D. Focosi³, P. Mazzetti², M. Pistello², R. Danesi⁴, F. Maggi²

¹Centro Retrovirus e Sezione Virologia, Dipartimento di Ricerca Traslazionale, Università di Pisa, Pisa

²Centro Retrovirus e Sezione Virologia, Dipartimento di Ricerca Traslazionale, Università di Pisa, Pisa; Unità Operativa di Virologia, Azienda Ospedaliero Universitaria Pisana, Pisa

³Centro Trasfusionale, Azienda Ospedaliero Universitaria Pisana, Pisa

⁴Farmacologia Clinica e Unità di Farmacogenetica, Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università di Pisa, Pisa

⁵Unità Operativa di Virologia, Azienda Ospedaliero Universitaria Pisana, Pisa

INTRODUZIONE

La misura della viremia di TTV può essere usata per valutare lo stato di funzionalità del sistema immunitario dell'ospite infettato. Il saggio molecolare più usato per la quantificazione del virus è stato sviluppato nei nostri laboratori nel 2001, è disegnato su un frammento della regione non tradotta del genoma di TTV ed usa la tecnologia Taqman real-time PCR (in-house rtPCR). Nel 2017, la ditta Biomerieux ha sviluppato e commercializzato un kit in real-time PCR per la rilevazione/quantificazione del DNA di TTV (TTV R-GENE®) con caratteristiche molto simili a quelle del nostro saggio. In questo studio, abbiamo valutato le performance di TTV R-GENE® e confrontato i risultati quantitativi ottenuti con quelli dell'in-house rtPCR e del saggio TTV digital droplet PCR (TTV ddPCR), di recente sviluppato e messo a punto nei nostri laboratori.

METODI

327 campioni di sangue intero/plasma sono stati quantificati con i saggi in-house rtPCR e TTV R-GENE®. 94 di questi campioni sono stati sottoposti anche ad analisi con TTV ddPCR.

RISULTATI

Il saggio TTV R-GENE® ha dimostrato buone performances in precisione e riproducibilità, ed un limite di sensibilità simile a quello dell'in-house rtPCR (12 copie di DNA di TTV per ml di sangue intero/plasma). Nello studio di comparazione, i campioni risultati positivi con il saggio TTV R-GENE® sono stati il 72%, rispetto al 65% col test in-house, con una concordanza del 90% ($\kappa = 0.76$; $R = 0.903$). Elaborazioni statistiche effettuate usando il test di Bland-Altman e la regressione lineare di Passing-Bablok hanno mostrato un'ottima correlazione tra i due metodi, con una differenza media di quantificazione estremamente ridotta ($-0.3 \log$ copie/ml). L'analisi in TTV ddPCR confermava i risultati qualitativi e quantitativi ottenuti coi due metodi in real-time PCR (99% di concordanza).

CONCLUSIONI

Lo studio dimostra un'ottima concordanza nei risultati fra i tre saggi molecolari utilizzati. Il saggio commerciale TTV R-GENE® è sensibile ed affidabile nel rilevamento di TTV in campioni clinici e può contribuire alla standardizzazione inter-laboratorio della quantificazione della viremia di TTV.