

ANALISI MOLECOLARE PER LA DIAGNOSI DI ZIKA VIRUS: TRE ANNI DI INDAGINI.

A. Colombo², M. Gambino², E. Matschi², M. Valisi², D. Russo¹, C. Roccio²

¹Clonit srl-Via Quaranta 57-Milano

²Service Lab, Cerba Healthcare Italia-Via Quaranta 57-Milano

INTRODUZIONE

Il verificarsi di casi di microcefalia e altri disturbi neurologici in feti e neonati potenzialmente associato all'infezione da virus Zika in alcuni Paesi dell'America centro-meridionale ha comportato la richiesta di test diagnostici sensibili e specifici per l'identificazione del virus.

Lo scopo di questo lavoro è stato quello di valutare la situazione attuale nel nostro Paese per quanto riguarda la diagnosi molecolare dell'infezione da virus Zika utilizzando un test diagnostico efficiente e rapido.

METODI

L'analisi è stata condotta su 324 campioni corrispondenti a 239 individui (di cui 143 uomini) che potenzialmente sono stati esposti al virus durante un recente viaggio: 10 nel 2016, 162 nel 2017 e 152 nel 2018 (al 21.08.18). Il 79% dei pazienti proveniva dal Nord-Ovest Italia mentre il 9% dal Centro-Sud. Le matrici biologiche indagate, come indicato dalle linee guida dell'Organizzazione Mondiale della Sanità, erano: plasma (110 campioni), urine (71), saliva (65) e liquido seminale (78). I campioni sono stati estratti a partire da 140 µl con il kit QIAamp Viral RNA (Qiagen) con estrattore automatico QIAcube (Qiagen) ed eluiti in 60 µl di tampone di eluizione. L'amplificazione è stata eseguita con strumentazione PCR realtime Lifetechnologies. Il test impiegato per la rilevazione dell'RNA del virus è il kit QuantyZika CE IVD (Clonit) che richiede 15 µl di estratto.

RISULTATI

I 324 campioni testati sono risultati tutti negativi per la presenza del virus. L'analisi sia dei controlli positivi sia del controllo di qualità internazionale QCMD ha confermato che il test utilizzato (QuantyZika, Clonit) è sensibile (95%) e specifico (99,9%). In 20 casi (6%) è stata ripetuta l'estrazione del campione per la presenza di inibitori della PCR individuati grazie al controllo di inibizione.

CONCLUSIONI

La richiesta del test molecolare per la ricerca del virus Zika è in forte aumento ed è diffusa in tutta Italia. Ciò nonostante, pochissimi laboratori eseguono il test, quindi molte coppie hanno affrontato lunghe ricerche per effettuarlo, segno che la diagnosi preventiva pre-concepimento della presenza del virus rappresenta un fattore di ansia nella ricerca di una gravidanza e la percezione del rischio di possibili complicanze per il feto è molto alta. La scarsa informazione relativa al ciclo vitale del virus (come la breve permanenza nel sangue) ha comportato a volte l'esecuzione di analisi su materiali biologici inadeguati, anche dopo colloquio con uno specialista. La diffusione del virus in Italia, dai nostri dati, è molto bassa poiché nessun paziente è risultato positivo al test. L'utilizzo di metodiche molecolari che consentono l'identificazione certa del virus Zika è auspicabile in quanto si rende il delicato periodo del concepimento e della gestazione più sereno con un miglioramento della qualità di vita e una riduzione considerevole dello stato d'ansia dei pazienti.