

## **ESPERIENZA GLAIT PER LE PROCEDURE DI CONVERSIONE IN UI/ML PER LA QUANTIFICAZIONE DEL DNA DI CMV NEI CAMPIONI DI PLASMA E SANGUE INTERO**

*Rossana Cavallo per il Gruppo di Lavoro AMCLI – Infezioni nel Trapianto (GLaIT)*

*SC Microbiologia e Virologia U, Città della Salute e della Scienza, Università di Torino*

I test per la determinazione quantitativa di CMV DNA rappresentano il gold standard per il monitoraggio dell'infezione virale nei pazienti sottoposti a trapianto di organo solido e cellule staminali emopoietiche. La presenza, in commercio, di numerosi saggi NAAT e/o lo sviluppo di metodi in-house ha portato ad una grande variabilità dei risultati in termini di quantificazione della carica virale nei diversi laboratori, con la conseguente difficoltà di standardizzare la gestione del paziente trapiantato. Recentemente, l'OMS ha costruito uno Standard Internazionale (SI) di riferimento (HCMV NIBSC 09/162) allo scopo di uniformare i risultati quantitativi di CMV DNA nelle due matrici biologiche, sangue intero e plasma, esprimendo gli stessi in Unità Internazionali (UI)/ml.

I laboratori che decidono di refertare i carichi di DNA-CMV in UI/ml devono attenersi scrupolosamente ai protocolli di estrazione ed amplificazione certificati dalle aziende produttrici dei kit e solo esclusivamente in queste condizioni operative possono utilizzare i fattori di conversione, indicati nelle brochure informative dei kit, e trasformare i risultati da copie/ml a UI/ml.

Dei 18 laboratori afferenti al gruppo GLaIT, 7 seguono una procedura certificata sia per il sangue intero che per il plasma, 3 laboratori solo per il sangue intero e 8 laboratori invece, non sono risultati certificati in quanto hanno apportato delle modifiche nelle procedure operative consigliate dalle aziende produttrici dei kit oppure utilizzano dei metodi in-house.

Sulla base di questi presupposti, il gruppo GLaIT ha deciso di avviare una procedura di certificazione con lo SI per CMV sia su sangue intero che plasma per abilitare gli 11 laboratori non certificati alla refertazione di CMV DNA in UI/ml.

Gli 11 laboratori hanno utilizzato un protocollo sperimentale GLaIT che illustra tutti i passaggi procedurali della certificazione ed in particolare prevede la quantificazione dello SI di CMV diluito a diverse concentrazioni seriali (da 5.5 Log10 a 3.0 Log10) in campioni di sangue intero e plasma (IgG e IgM negativi per CMV), adottando le metodiche di estrazione e amplificazione proprie di ciascun laboratorio.

In totale sono stati processati 283 campioni di sangue intero e 466 campioni di plasma e i risultati ottenuti sono stati analizzati mediante test statistici al fine di calcolare per ciascun centro il fattore di conversione.

I dati quantitativi ottenuti hanno mostrato una variabilità del tutto accettabile, con un range 80% di circa 1 Log10 (+/- 0.5 Log10) in ambedue i materiali biologici. Come era prevedibile, nelle diluizioni a concentrazioni basse di SI è stata osservata una maggiore variabilità in ambedue le matrici biologiche e questo fenomeno è stato anche osservato nel sangue intero con concentrazioni elevate di DNA-CMV.

Attualmente, tutti i 18 laboratori GLaIT sono certificati per la conversione da copie/ml a UI/ml di CMV-DNA nei campioni di sangue intero e plasma ed inizieranno in tempi brevi la nuova refertazione. Le attività del GLaIT proseguiranno con l'attivazione della procedura certificata per la conversione in UI/ml di EBV-DNA nei campioni di sangue intero e plasma.