

112

VALUTAZIONE DI UNA METODICA DI REAL TIME PCR PER LA DETERMINAZIONE QUANTITATIVA DI HCV RNA

Racca S.¹, Ardemagni A.¹, Santoro F.¹, Comastri G.², Pulvirenti F.R.², Clementi M.^{1,3}

¹Laboratorio di Microbiologia e Virologia, Ospedale S.Raffaele, Milano

²Abbott Molecular, Roma

³Università Vita-Salute San Raffaele, Milano

Introduzione. L'adozione nei kit diagnostici del formato "real-time" rappresenta un indubbio progresso nel monitoraggio della risposta alla terapia antivirale dei pazienti con infezione da HCV. L'utilizzo di probe fluorescenti in grado di emettere il segnale associato alla formazione dei prodotti di amplificazione, consente infatti di disporre di risultati quantitativi e allo stesso tempo di raggiungere sensibilità uguale o superiore ai tradizionali test qualitativi. La real time PCR inoltre può quantificare con accuratezza livelli di HCV RNA lungo un intervallo di valori che può estendersi per 6 o 7 ordini di grandezza. Un singolo test può quindi far fronte alla duplice richiesta di test qualitativi e quantitativi, offrendo maggiori velocità ed efficienza diagnostica. Fino a tempi relativamente recenti, i test in real time PCR sono stati disponibili solo sotto forma di dosaggi "in-house". Abbiamo valutato le prestazioni del test Abbott RealTime HCV (range di linearità: 12-10⁸ UI/mL), un dosaggio che prevede purificazione dell'RNA, preparazione e dispensazione della mastermix e amplificazione/rilevazione completamente automatici.

Metodi. Analisi su campioni non selezionati, afferenti al Laboratorio con richiesta di HCV-RNA qualitativo, testati con Roche Cobas Amplicor (18 campioni), o quantitativo, testati con Versant HCV-RNA 3.0 (75 campioni).

Risultati. Per 17 dei 18 campioni con richiesta qualitativa, il risultato del test Abbott RealTime e Amplicor era concordante (1 campione era negativo con Amplicor e "<12 UI/mL, target rilevato" con Abbott). Dei 75 campioni con richiesta quantitativa, 15 erano negativi e 57 positivi per entrambi i test; 3 campioni erano negativi con b-DNA e quantificabili con Abbott RealTime (14, 302, 368 UI/mL). L'analisi di regressione lineare condotta sui 57 campioni con valore compreso nel range dinamico di entrambi i test, mostrava un coefficiente di correlazione r pari a 0,814. Il 75,4% e il 93,0% dei campioni ha mostrato una differenza nei valori di UI/mL inferiore a 0,5 e 1,0 log, rispettivamente. La differenza media Abbott-bDNA è stata di 0,19 log UI/mL.

Conclusioni. Il dosaggio Abbott Real-Time HCV ha dimostrato buona concordanza con il test qualitativo e buona correlazione con il test b-DNA. Questa metodica ha mostrato caratteristiche tali da poter essere utilmente impiegata come unico saggio per la determinazione di HCV RNA nella valutazione della risposta virologica in corso di trattamento, al termine della terapia antivirale, e, infine, per le successive verifiche dell'eradicazione virale.

113

SPORADICA PRESENZA DI NOROVIRUS NEI PAZIENTI AFFETTI DA GASTROENTERITE

Rimoldi SG.¹, Pagani C.¹, Drago L.¹, Lombardi A.¹, Tocalli L., Molteni E.¹, Bossi C.¹, Tonielli C.¹, Gismondo MR.¹

¹Unità Operativa di Microbiologia,

Azienda Ospedaliera Polo Universitario L. Sacco di Milano

Introduzione. I Norovirus sono virus a RNA appartenenti alla famiglia dei Caliciviridae di cui sono noti sette genogruppi, solo GI, GII e GIV sono associabili a gastroenteriti umane.

Hanno un'incidenza di stagionalità prevalentemente nel periodo invernale e sono caratterizzati da una diffusione rapida sia per via oro-fecale che mediante aerosoli.

Numerosi episodi in tutto il mondo li vedono responsabili di casi clinici epidemici, tanto da essere considerati al terzo posto tra i più comuni agenti eziologici responsabili della gastroenterite virale.

Con il nostro studio ci siamo prefissati di valutare nell'ambito dell'Ospedale L.Sacco e della realtà del bacino di utenza ad esso affluente, l'insorgenza di casi sporadici di infezione da NoV

Metodi. In un periodo tra Ottobre e Aprile 2007 sono stati raccolti 200 campioni fecali, provenienti dalla pediatria (40), poliambulatorio (79) e dalle tre divisioni di malattie infettive (81), di pazienti che accusavano una sintomatologia gastroenterica, ma negativi per Salmonella, Shigella, Yersinia, Campylobacter e Rotavirus.

Tutti i campioni sono stati testati con il kit ELISA Ridascreen (R-Biopharm AG, Germania) e confermati nella positività con RT-PCR Calici/Astrovirus consensus (Argene-Francia).

Risultati. La percentuale di positività riscontrata era rispettivamente del 5% in pediatria e nei reparti infettivi, del 4% nei poliambulatori.

Dei 9 campioni risultati positivi all'ELISA solo 4 ha trovato una conferma col il metodo biomolecolare.

Conclusioni. Il nostro studio ha mostrato nel periodo tra gennaio e aprile la presenza sporadica di Norovirus in pazienti con gastroenterite. Sono necessari ulteriori approfondimenti circa il possibile ruolo di Norovirus nei casi sporadici, nonché la loro ricerca nella pratica routinaria.