

101

VALUTAZIONE DEL DOSAGGIO ABBOTT REAL-TIME HCV-RNA

Galli S.¹, Meliconi, M.G.¹, Vannini R.¹, Comastri G.², Pulvirenti F.R.², Furlini G.¹

¹UO di Microbiologia, Az. Ospedaliera di Bologna Policlinico S.Orsola-Malpighi.

²Abbott Molecular, Roma

Introduzione. La tecnologia di amplificazione e di rilevazione in real-time di HCV-RNA offre indubbi vantaggi nella valutazione dell'efficacia della terapia nei pazienti con epatite C cronica. Infatti l'ampio intervallo lineare e la spiccata sensibilità di cui sono capaci i test in real-time rispetto ai test in PCR convenzionale, consentono di superare l'attuale necessità di utilizzo di test qualitativi (altamente sensibili) e quantitativi (con sensibilità insufficiente a verificare l'eradicazione dell'infezione). Abbiamo valutato le prestazioni del dosaggio Abbott RealTime HCV-RNA, con estrazione automatica (preparatore m2000sp) e amplificazione/lettura sul cycler m2000rt. Il range dichiarato di linearità (volume input 0,5 mL) è di 12-10⁸ UI/mL. La sonda di real-time (short linear probe) non si avvale di chimica ad idrolisi e, rimanendo in larga parte intatta, consente l'introduzione di un passaggio di ibridizzazione/lettura a bassa temperatura (35°C). In condizioni di minore stringenza è possibile quindi rilevare e quantificare correttamente anche target con numerosi "mismatches". La rilevazione e la omogeneità della quantificazione dei diversi genotipi di HCV è in tal modo assicurata.

Metodi. 117 campioni retrospettivi da pazienti con infezione da HCV, già analizzati con test quantitativo (b-DNA v3, 92 campioni) o con test qualitativo (TMA, 25 campioni), sono stati testati con Abbott Real-Time.

Risultati. Nel confronto con b-DNA, 80 campioni mostravano valore compreso nel range dinamico di entrambi i test. Il coefficiente di correlazione r è risultato pari a 0,967. Il 96,2% (77/80) dei campioni ha mostrato una differenza inferiore a 0,5 log, nessuno superava 1 log. La differenza media Abbott-bDNA è stata di 0,08± 0,20 log UI/mL. Dei 12 campioni con risultato b-DNA inferiore 615 UI, 11 erano quantificabili con Abbott (range 70-1146 UI/ml) ed 1 risultava positivo, ma con valore inferiore a 12 UI/mL. Dei 25 campioni testati in modo qualitativo e tutti negativi con TMA, 24 erano negativi anche con Abbott ed uno risultava positivo, ma con valore inferiore a 12 UI/mL. L'analisi delle differenze dei valori condotta separatamente sui genotipi 1 (n=31), 2 (n=13), 3 (n=11) e 4 (n= 4) ha mostrato un valore medio (Abbott-bDNA) di 0,04, 0,17, 0,26, 0,11 log UI/mL, rispettivamente.

Conclusioni. Il dosaggio Abbott Real-Time ha mostrato una elevata concordanza con i test bDNA v.3 e TMA. L'eccellente correlazione con il test b-DNA v.3 e la virtuale assenza di bias, rendono i risultati dei due test praticamente confrontabili. Il test ha dimostrato equivalenza nella quantificazione dei diversi genotipi.

102

UTILITÀ DEL TEST RT-PCR NELLA DIAGNOSI E MANAGEMENT DELL'INFEZIONE DA CMV NEL PAZIENTE TRAPIANTATO.

Maiorano G.¹, Bruno C.¹, Gentile A.¹, Sessa A.², Ferretti A.V.S.³, Pecoraro C.³, Ingala F.¹

¹U.O.C. - Ospedale Cardinale Ascalesi - ASL NA1

²D.H.Trapianti P.O. Vecchio Pellegrini - ASL NA1

³Struttura Complessa di Nefrologia e Dialisi - A.O.R.N.

"Santobono-Pausilipon" - Ospedale Pediatrico "Santobono" - Napoli

Introduzione. Scopo dello studio intrapreso è valutare l'utilità del test RT-PCR CMV-DNA quantitativo nell'ambito della diagnosi e management clinico-terapeutico del paziente trapiantato.

Metodi. Sono stati analizzati 1169 campioni sequenziali di plasma, pervenuti nell'arco di 2 anni (2005-2006) da 95 pazienti adulti e 65 pazienti in età pediatrica trapiantati di rene nell'ambito del follow-up clinico e terapeutico post-trapianto e in base ad eventi clinici verificatisi. La regione target di CMV è stata amplificata utilizzando un kit commerciale (Nanogen) range di sensibilità 80 - 1.000.000 copie/ml con rilevamento della fluorescenza su ABI PRISM 7300. I pazienti sono stati arruolati tenendo conto dell'epoca del trapianto, del numero di leucociti al tempo 0, e dell'insorgenza della sintomatologia in relazione alla viremia.

Risultati. Sono risultati positivi al test Real Time CMV DNA 25 pazienti adulti pari al 26% e 9 pazienti pediatrici pari al 13,8 %. Il trattamento terapeutico è stato adottato per 13 pazienti adulti e 8 pazienti pediatrici. La terapia farmacologica ha determinato la negativizzazione del CMV-DNA nel plasma di 11 pazienti adulti (pari allo 84%) e di 6 pazienti pediatrici (pari al 75 %). Sono risultati resistenti al trattamento 2 pazienti pediatrici e 2 pazienti adulti. I pazienti adulti non sottoposti al trattamento farmacologico avevano un numero di copie < 5600 copie/ml.

Conclusioni. Il test di RT-PCR CMV-DNA ha evidenziato precocemente la viremia nel sangue rispetto alla diminuzione dei leucociti, e in molti casi il brusco innalzamento della stessa in tempi brevi (<1 settimana).

L'utilità nell'ambito del monitoraggio terapeutico è indiscussa. Il valore predittivo dello sviluppo di malattia rimane da chiarire. Nell'attesa di una migliore standardizzazione del test, abbiamo considerato la carica virale di 5.600 copie/ml un possibile "cut-off point" a cui far seguire controlli più ravvicinati per una tempestiva instaurazione della terapia.