

DETERMINAZIONE DELLA CARICA DI CMV IN CAMPIONI DI SANGUE ESSICCATO SU CARTA DA FILTRO (DBS)

Mammoliti A., Binda S., Didò P., Primache V., Barbi M.

Sezione di Virologia, Dipartimento di Sanità Pubblica - Microbiologia - Virologia, Università degli Studi di Milano

Introduzione. Un'elevata carica virale in urine o sangue di neonati con infezione congenita da Cytomegalovirus (CMV) potrebbe rappresentare un marcatore di prognosi sfavorevole. Diversi studi hanno evidenziato i numerosi vantaggi legati all'impiego del sangue essiccato su Guthrie card (DBS). Pertanto sarebbe molto utile determinare la carica di CMV-DNA in questo tipo di campione, raccolto routinariamente alla nascita.

L'obiettivo di questo lavoro preliminare è stato verificare la correlazione tra le cariche rilevate nel sangue fresco (SF) e nei corrispondenti DBS.

Metodi. Sono stati esaminati 69 campioni di SF e DBS, appartenenti a soggetti con infezione da CMV, risultati positivi per CMV-DNA in nested-PCR. Il DNA virale è stato estratto con colonne di affinità (QIAGEN) e quantificato mediante Real-time PCR commerciale (Nanogen).

Risultati. La PCR quantitativa ha dato esito positivo in 64 campioni di SF ed in soli 25 DBS. La carica nei DBS (mediana: $1,09 \times 10^3$ copie/ml) è risultata significativamente inferiore ($p < 0,05$) a quella del SF corrispondente ($1,67 \times 10^4$ copie/ml).

Anche le mediane delle cariche virali del SF dal quale sono stati ottenuti i 39 DBS negativi ed i 25 positivi ($1,10 \times 10^3$ vs $1,67 \times 10^4$ copie/ml) sono risultate significativamente diverse.

Conclusioni. I risultati ottenuti non solo hanno evidenziato una riduzione della quantità di CMV-DNA tra SF e corrispondente DBS pari a circa 1 log, presumibilmente dovuta alla minore quantità di sangue esaminato, ma anche una minore sensibilità del sistema. Essendo l'alta carica virale indice di insorgenza di sequele nei neonati congenitamente infetti, riteniamo che il metodo proposto consenta comunque di individuare i soggetti da monitorare in quanto maggiormente a rischio di complicanze tardive.

Il nostro gruppo sta già applicando tale metodica a DBS di neonati con infezione congenita dei quali è possibile reperire le informazioni relative alla sintomatologia alla nascita ed al follow-up.