

3° CONGRESSO NEWMICRO

...The need for speed: il
laboratorio di Microbiologia e le
Urgenze Infettive



Automazione del flusso di lavoro in virologia molecolare

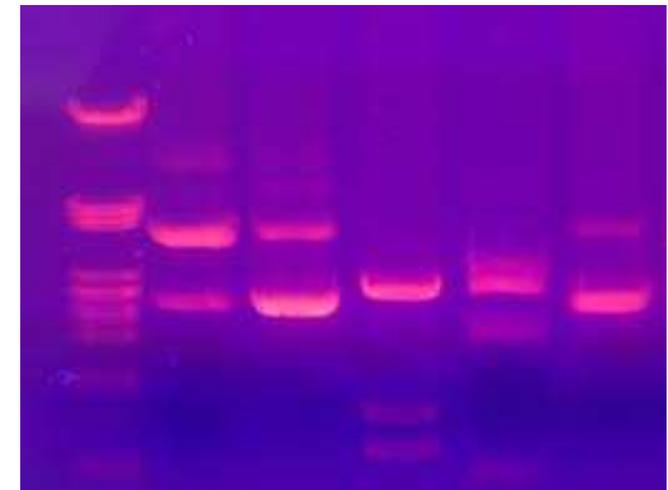
Influenza della fase pre-analitica
nei test molecolari

M. Favarato - ULSS12 Veneziana

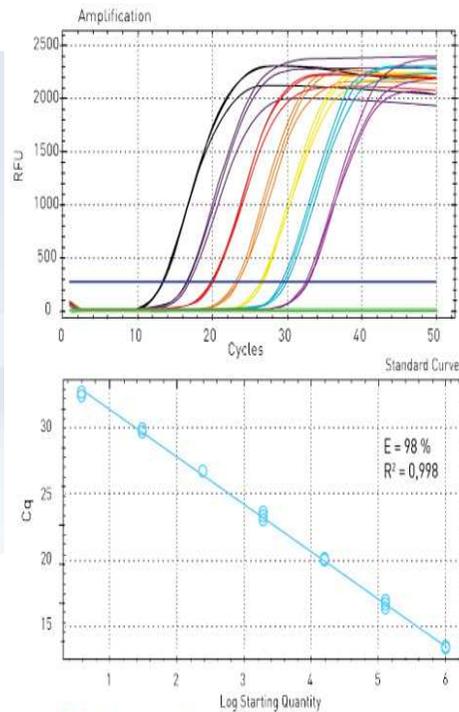
3° CONGRESSO NEWMICRO
...The need for speed: il
laboratorio di Microbiologia e le
Urgenze Infettive



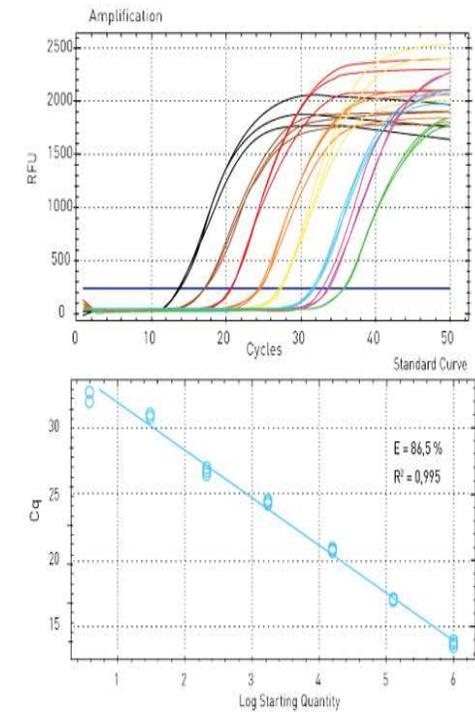
PCR le Origini



3° CONGRESSO NEWMICRO
 ...The need for speed: il
 laboratorio di Microbiologia e le
 Urgenze Infettive



Eurogentec



Competitor L

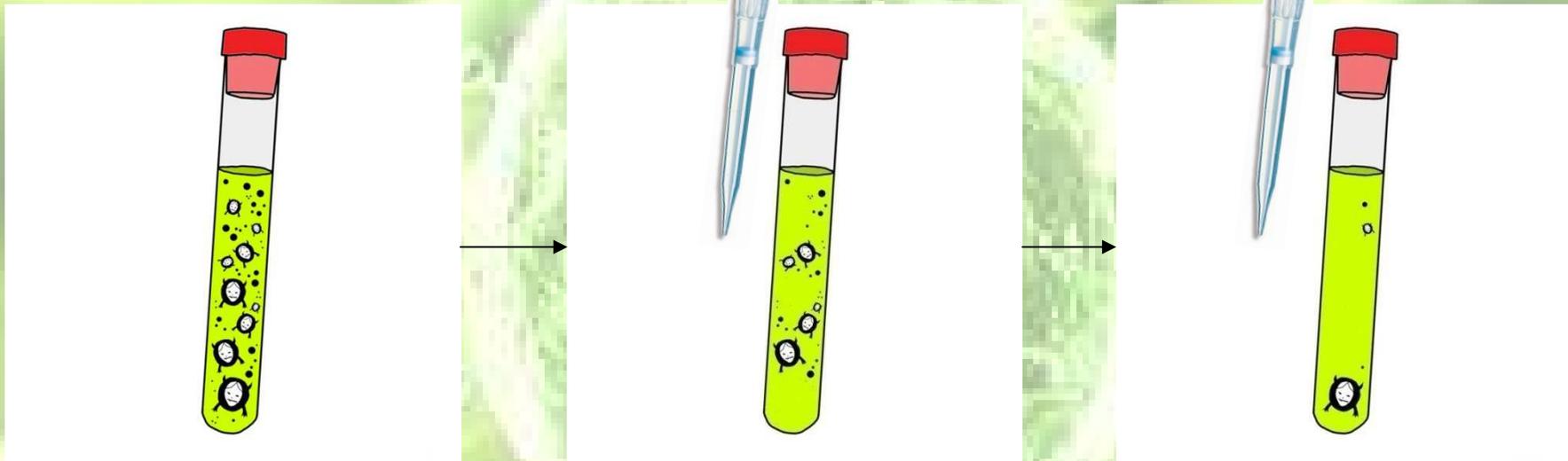


Fasi Critiche

- Labilità del Target
 - Temperatura e tempo di conservazione
 - Temperatura e tempo di trasporto
- Inibitori reazione di PCR o del C.I.
 - Prelievo
 - Anticoagulante



Risultato della degradazione del target da parte di nucleasi, tempo e temperatura di conservazione



Campione al prelievo



Fasi Critiche

- Estrazione Acidi Nucleici
 - Impiego di piattaforme automatizzate
- **Stabilità del sistema di PCR: Chimica e strumentazione**



Strumenti a disposizione

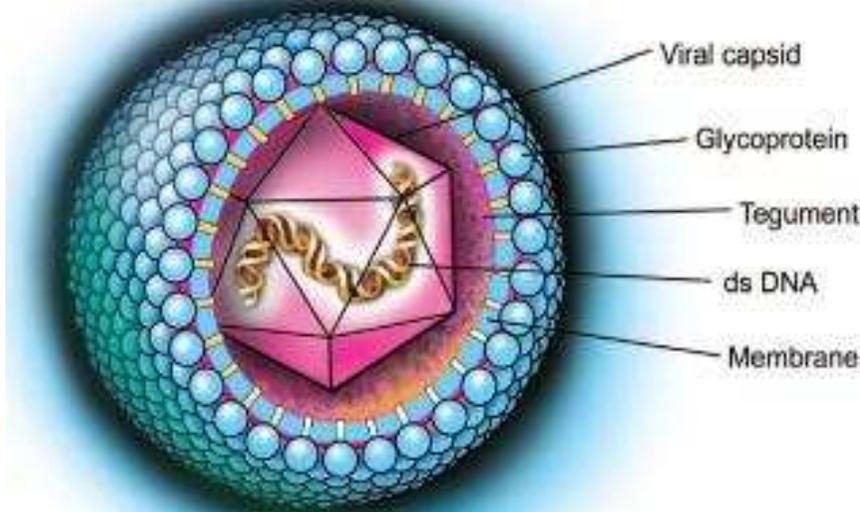
- Implementazione delle procedure operative secondo standard ISO 9001 - 15189
- Valutazione consapevole delle offerte di mercato in relazione alla tipologia di test da eseguire.

3° CONGRESSO NEWMICRO
...The need for speed: il
laboratorio di Microbiologia e le
Urgenze Infettive





Citomegalovirus



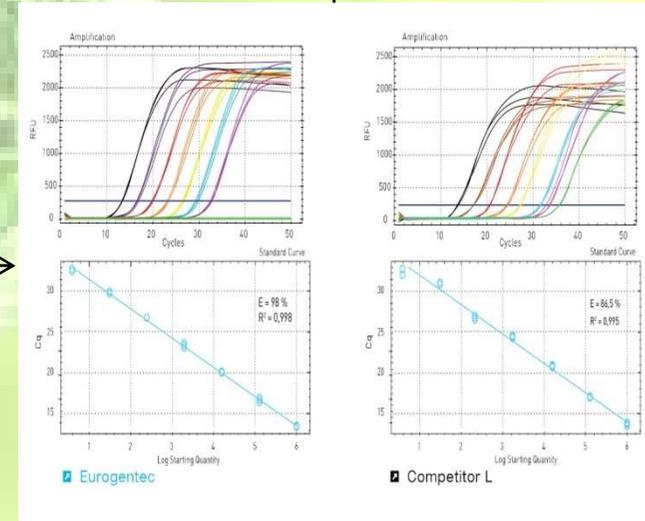
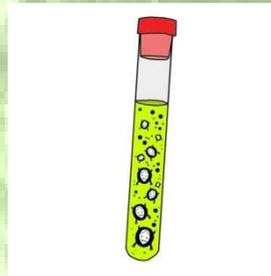
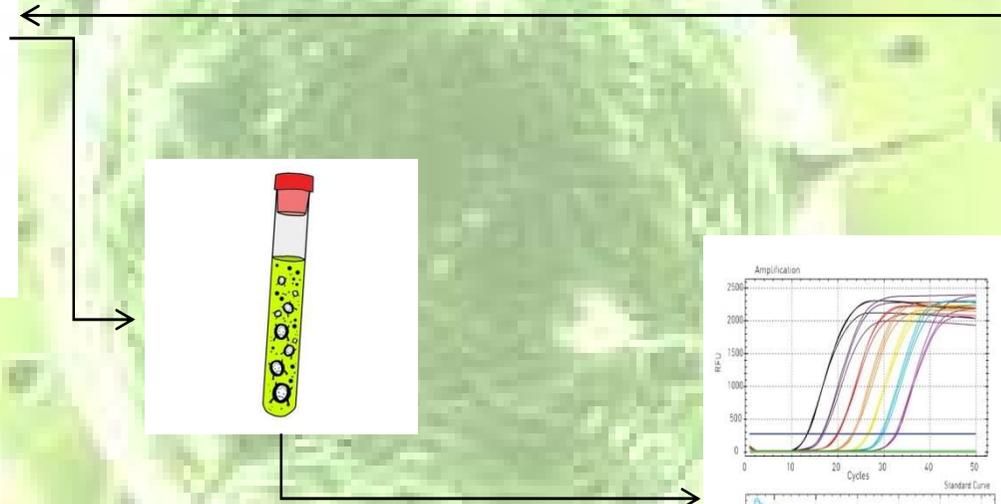
HCMV Human Cytomegalovirus

- HCMV caratterizzato da un genoma a DNA di notevoli dimensioni >230kb.
- Responsabile di anomalie congenite e ritardo mentale nei neonati;
- Responsabile di gravi complicazioni in soggetti immunocompromessi (AIDS) o pazienti sottoposti a trapianto.
- Responsabile di malattie lievi o subcliniche in adulti immunocompetenti



Obiettivi

Dato analitico = Valore biologico reale





Obiettivi

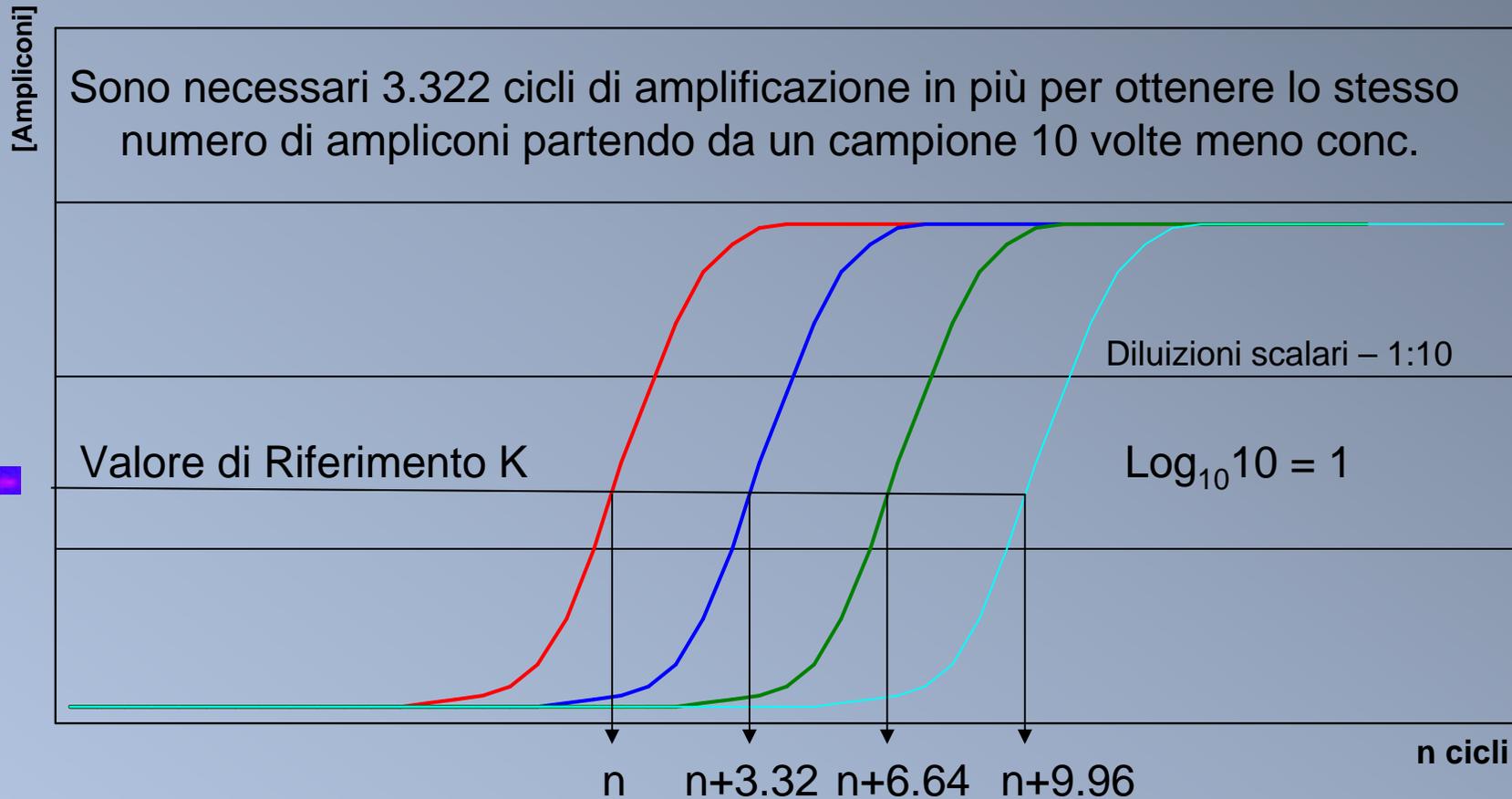
- Stabilità del sistema di amplificazione
- Sensibilità analitica
- Robustezza del sistema
- Allineamento con sistema in uso
- Influenza del sistema di estrazione

3° CONGRESSO NEWMICRO
...The need for speed: il
laboratorio di Microbiologia e le
Urgenze Infettive

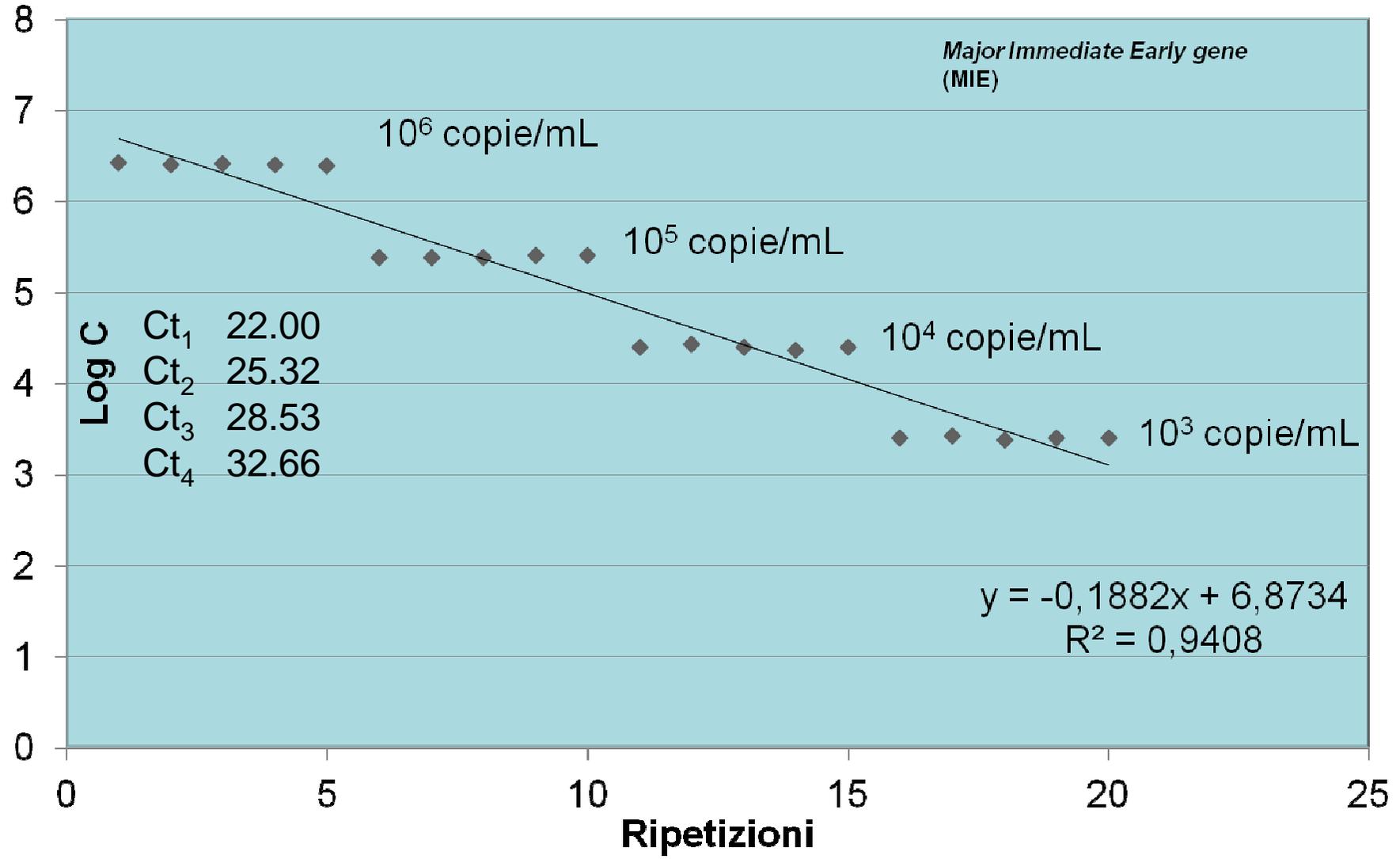


Stabilità del Sistema

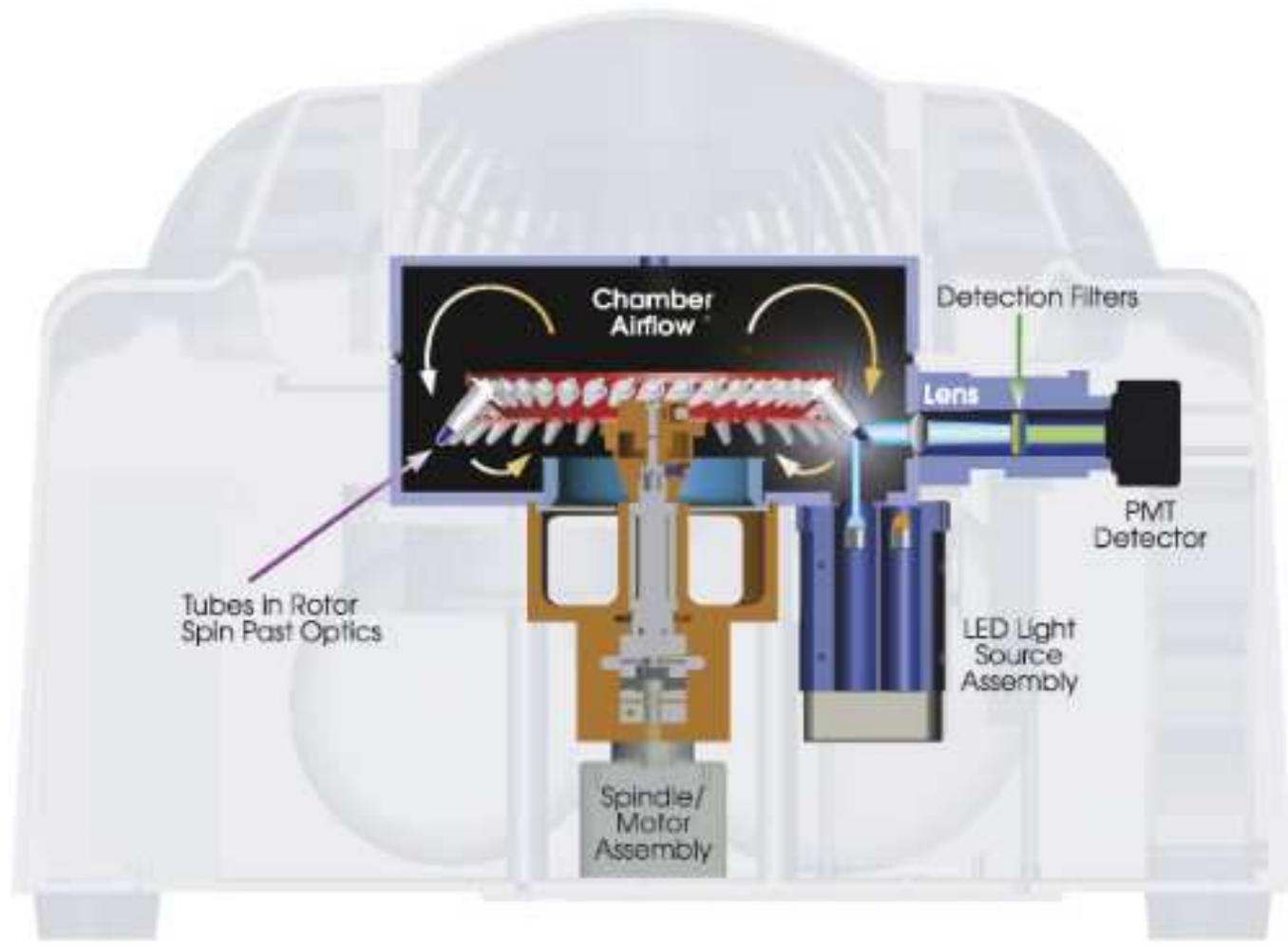




3° CONGRESSO NEWMICRO
 ...The need for speed: il
 laboratorio di Microbiologia e le
 Urgenze Infettive



3° CONGRESSO NEWMICRO
...The need for speed: il
laboratorio di Microbiologia e le
Urgenze Infettive

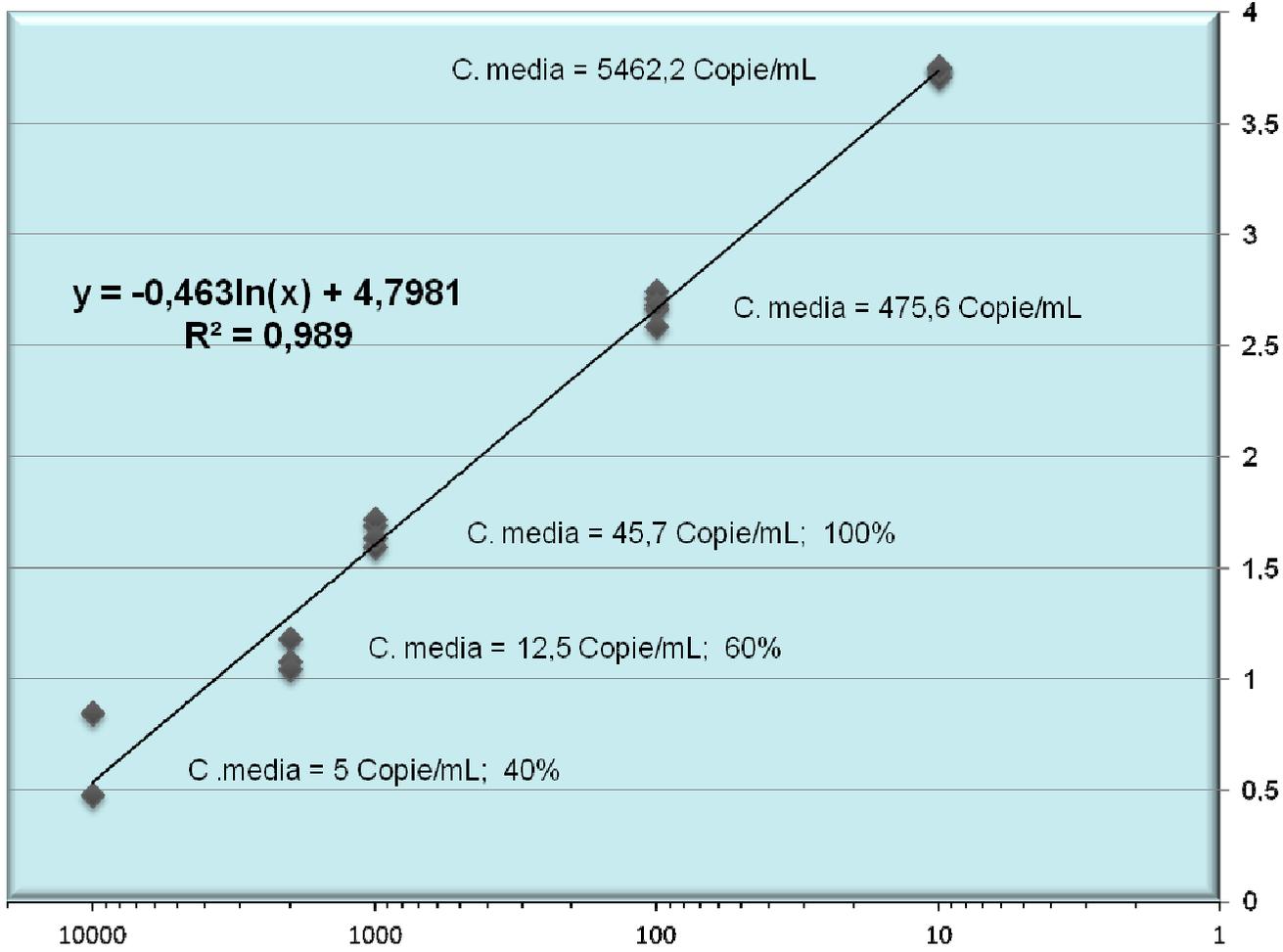


3° CONGRESSO NEWMICRO
...The need for speed: il
laboratorio di Microbiologia e le
Urgenze Infettive



Sensibilità Analitica

3° CONGRESSO NEWMICRO
 ...The need for speed: il
 laboratorio di Microbiologia e le
 Urgenze Infettive

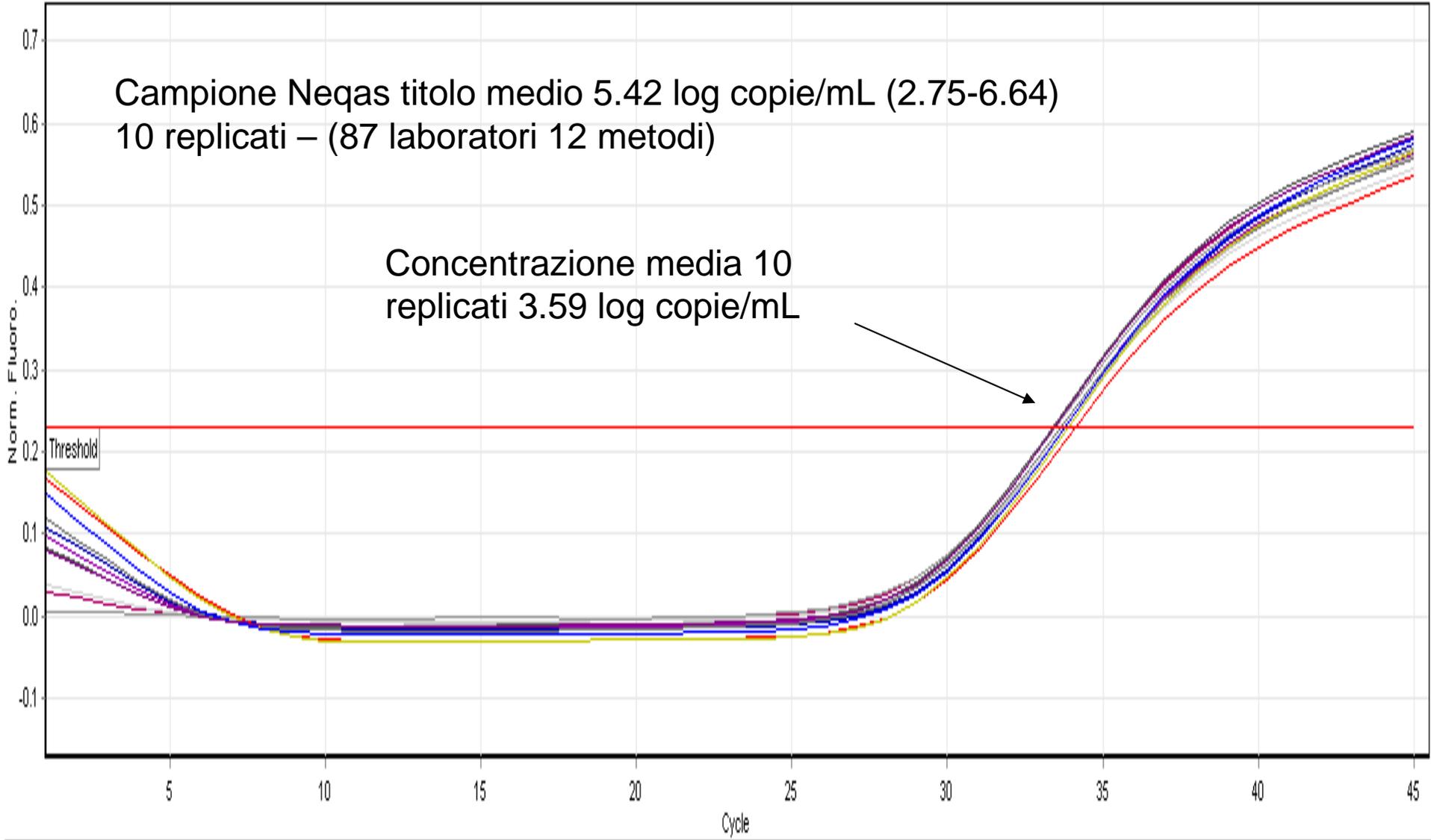


3° CONGRESSO NEWMICRO
...The need for speed: il
laboratorio di Microbiologia e le
Urgenze Infettive



Riproducibilità e Ripetibilità

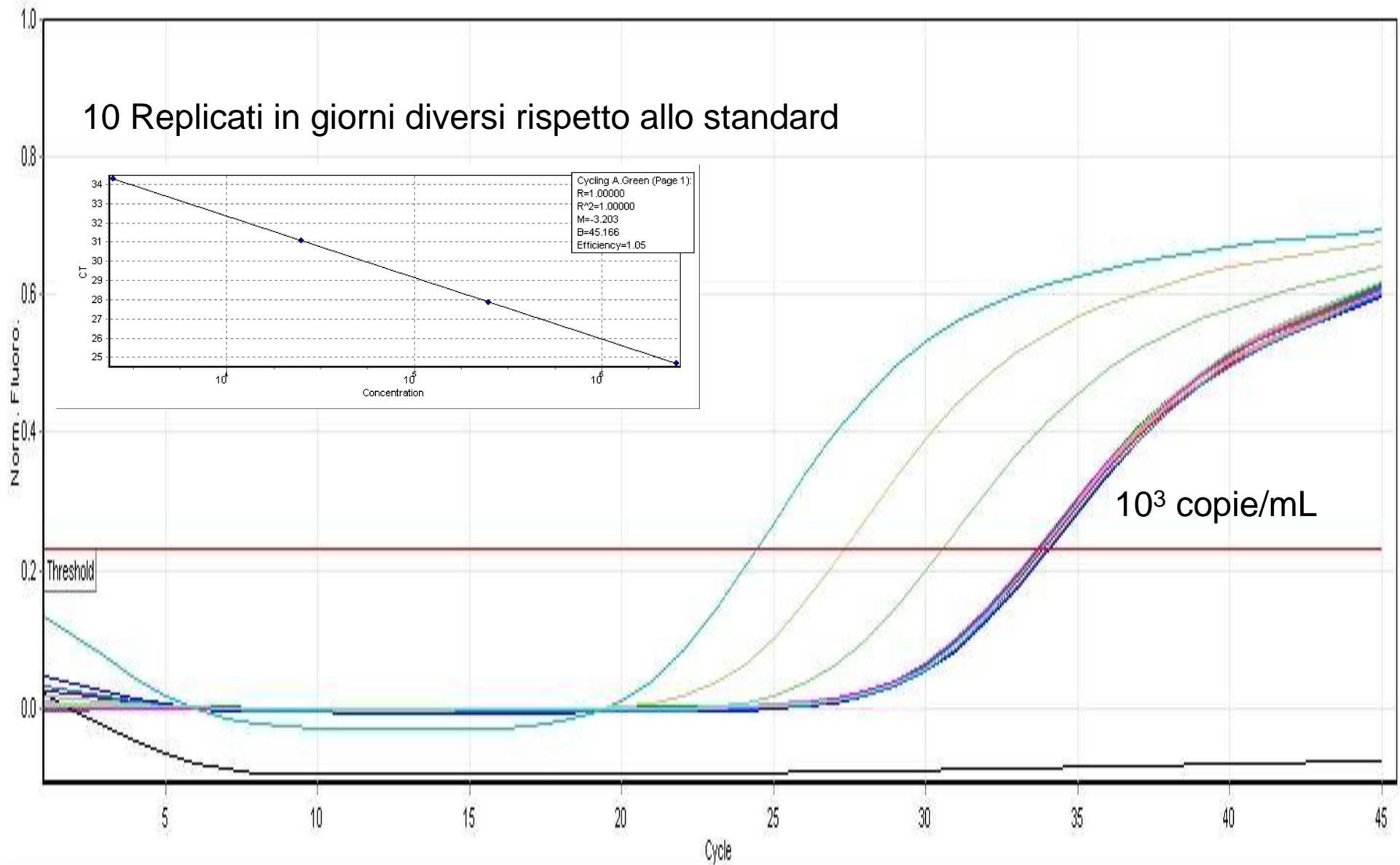
3° CONGRESSO NEWMICRO
...The need for speed: il
laboratorio di Microbiologia e le
Urgenze Infettive



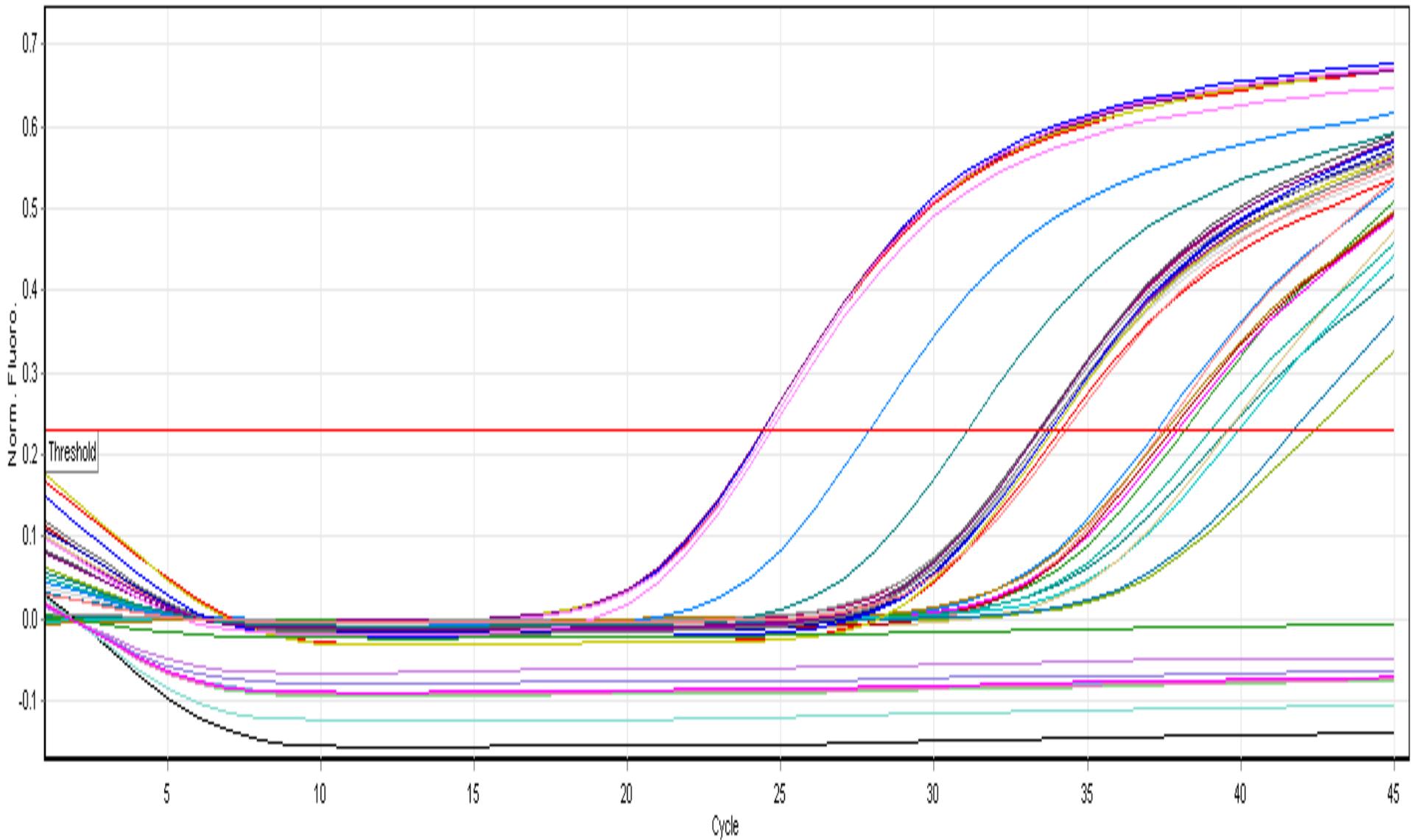
3° CONGRESSO NEWMICRO
 ...The need for speed: il
 laboratorio di Microbiologia e le
 Urgenze Infettive



10 Replicati in giorni diversi rispetto allo standard



3° CONGRESSO NEWMICRO
...The need for speed: il
laboratorio di Microbiologia e le
Urgenze Infettive



3° CONGRESSO NEWMICRO
...The need for speed: il
laboratorio di Microbiologia e le
Urgenze Infettive



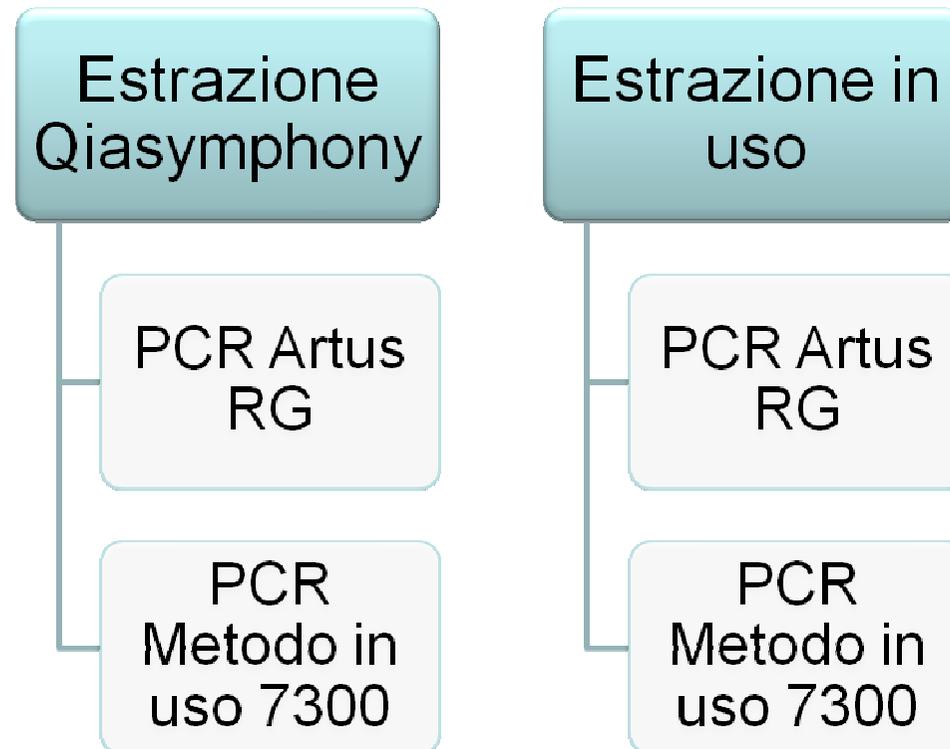
Confronto



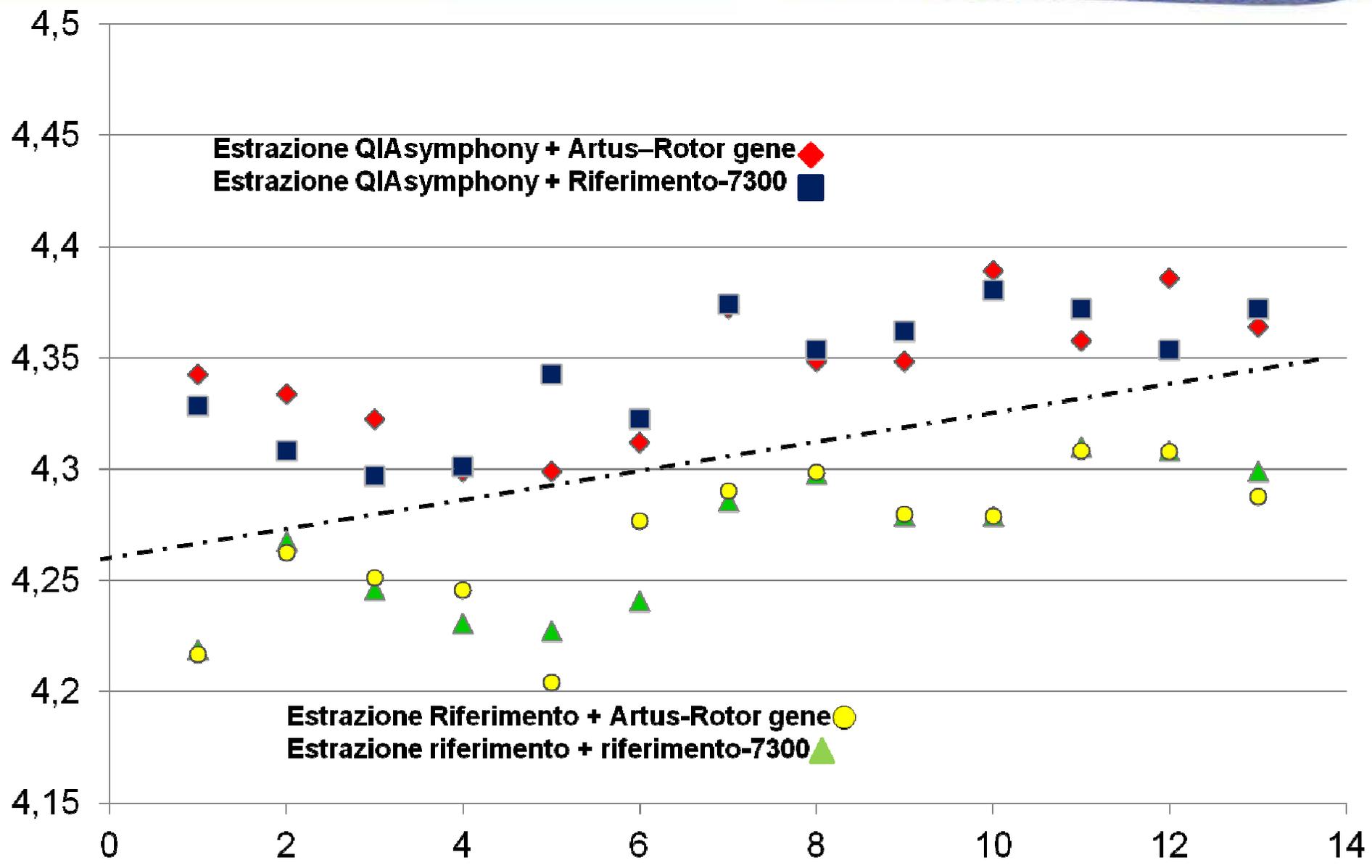
3° CONGRESSO NEWMICRO
...The need for speed: il
laboratorio di Microbiologia e le
Urgenze Infettive



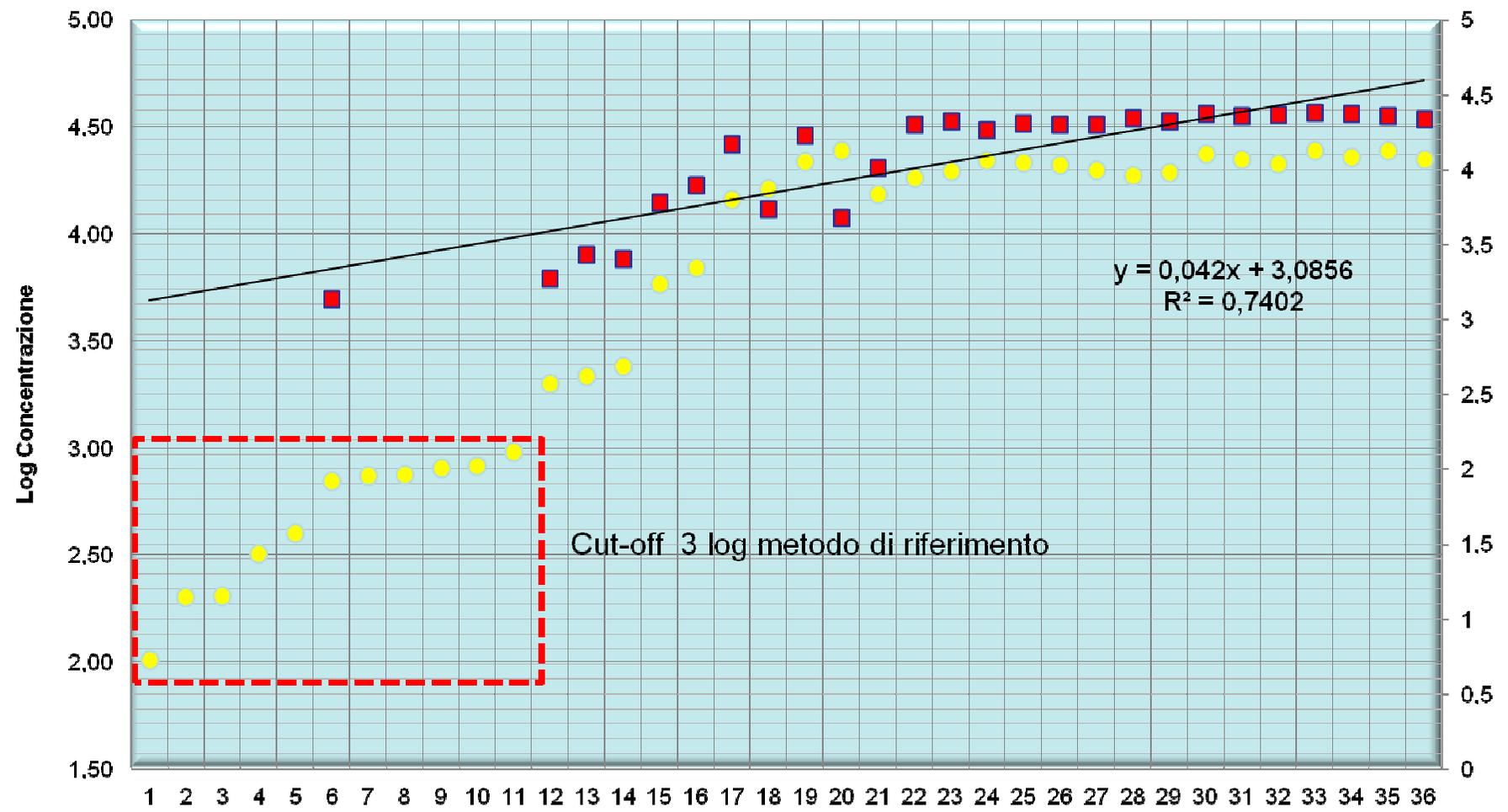
- Sono stati analizzati in questo studio complessivamente circa 200 campioni tra standard, plasmidi e campioni clinici (S.I. -K₂EDTA).



3° CONGRESSO NEWMICRO
 ...The need for speed: il
 laboratorio di Microbiologia e le
 Urgenze Infettive



3° CONGRESSO NEWMICRO
 ...The need for speed: il
 laboratorio di Microbiologia e le
 Urgenze Infettive





Conclusioni

- I risultati ottenuti mostrano un sistema, nel suo complesso, particolarmente stabile e robusto, con buone performance sia nell'estrazione sia nell'amplificazione degli acidi nucleici.
- Molto buona appare la sensibilità analitica e riproducibilità del dato clinico.



Conclusioni

- Rimangono da testare con questo sistema e relativamente all'indagine di CMV altri fluidi biologici, come ad esempio il latte materno e le urine.
- Interessante sarà la standardizzazione dei valori di PCR espressi in copie/mL rispetto a standard internazionali (UI/mL)..... ma questo in realtà vale per tutti.