

M.E. Onori<sup>1</sup>, C. Ricciardi Tenore<sup>1</sup>, S. Baroni<sup>1</sup>, A. Urbani<sup>1,2</sup>, A. Minucci<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UOS di Diagnostica Molecolare e Genomica, IRCCS Fondazione Policlinico Universitario Agostino Gemelli di Roma

<sup>2</sup> Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma, Italia

## INTRODUZIONE

La pandemia da Coronavirus Sars-CoV-2, iniziata nel 2019 e tutt'ora in corso, ha aperto un importante dibattito circa l'utilizzo dei farmaci Clorochina e Idrossiclorochina come cura in pazienti Glucosio-6-fosfato-deidrogenasi (G6PD) carenti affetti da Covid-19.

Lo scopo di questo studio è stato quello di valutare le performance del kit «G6PDH CareStart Rapid Test» (Meridian Healthcare s.r.l.) nel laboratorio analisi dell'ospedale IRCCS Fondazione Policlinico Universitario A. Gemelli di Roma, centro di riferimento per diagnosi biochimica e molecolare di favismo.

## MATERIALI E METODI

Per questo studio sono stati inclusi un totale di 20 campioni di sangue periferico di pazienti con attività di G6PD carente, intermedia e normale. Il dosaggio enzimatico della G6PD è stato eseguito mediante lo strumento «Advia Chemistry XPT System» (Siemens) (Fig. 1A), mentre il dosaggio qualitativo con il kit «G6PDH CareStart Rapid Test». La procedura del kit «G6PDH CareStart Rapid Test» prevede l'uso del pungidito con il conseguente prelievo del sangue con la mini-pasteur (forniti dal kit), il trasferimento sulla card della goccia di sangue (circa 2 µl) nella finestra «S» e di 2 gocce di «Assay Buffer» (equivalente a 100 µl) nella finestra «A». Dopo 10 minuti dalla deposizione del campione, si può procedere alla lettura: card di colore bianco per i campioni carenti e card di colore rosa per quelli normali (Fig. 1B). Tutti i campioni sono stati valutati anche a livello molecolare, confermando la carenza enzimatica con l'identificazione dell'alterazione molecolare nel gene.

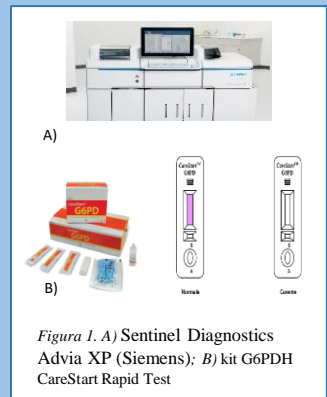


Figura 1. A) Sentinel Diagnostics Advia XP (Siemens); B) kit G6PDH CareStart Rapid Test

## RISULTATI

Dei 20 test processati tramite il kit «G6PDH CareStart Rapid Test», 4 card sono state processate come da protocollo, senza l'ausilio delle pipette e non sono risultate leggibili a causa di un'eccessiva saturazione (Fig. 2A). Le restanti 16 card sono invece state processate attraverso l'utilizzo delle pipette ed è stata evidenziata una perfetta concordanza tra il dosaggio enzimatico e il risultato prodotto dalla lettura delle card: rosa=non carente, bianca=carente (Fig. 2 B/C). Dal totale delle card leggibili sono stati riscontrati 6 campioni con attività G6PD normale e 10 campioni con attività carente. Il test molecolare effettuato sui campioni risultati carenti ha evidenziato l'alterazione molecolare responsabile della carenza.

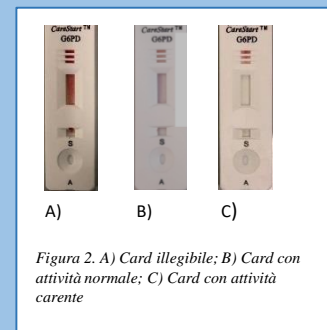


Figura 2. A) Card illegibile; B) Card con attività normale; C) Card con attività carente

## DISCUSSIONE

Dai risultati prodotti dal nostro studio si evince che il kit «G6PDH CareStart Rapid Test» (Meridian Healthcare s.r.l.) è rapido e facile da utilizzare. Nonostante la concordanza tra dosaggio enzimatico ed il risultato qualitativo prodotto dalle card, è necessario tuttavia sottolineare alcune criticità: per produrre risultati ideali è stato necessario procedere con l'utilizzo della pipetta, sia per il campione di sangue che per l'Assay Buffer. Senza l'uso della pipetta, infatti, la card risulta essere troppo saturata e di difficile interpretazione. I campioni con dosaggio normale o campioni fortemente carenti producono un risultato concordante ed evidente ad occhio nudo da parte dell'operatore. Per i campioni borderline, la valutazione dell'esito della card risulta, invece, difficoltosa. Tale evidenza suggerisce la necessità di un lettore di card (attualmente non disponibile dalla ditta) per produrre un risultato maggiormente confidente. Nonostante le criticità sopra riportate, riteniamo che il kit «G6PD CareStart Rapid Test» possa essere considerato un ottimo test di screening utile ad identificare rapidamente un paziente G6PD carente, sia in pronto soccorso che in sede di laboratorio, soprattutto in questo periodo in cui l'associazione tra la carenza di G6PD e Covid-19 è di vitale importanza.