

with the p16^{INK4a}/cyclin D/Rb pathway is inactivation of pRB through binding with E7 of the high-risk Human papillomavirus (HR-HPV). The role of p16^{INK4a} as a marker of HR-HPV and in diagnosis of CIN has been well established, but its predictive value in a) clearance of the virus after CIN treatment, and b) as a prognostic marker of cervical cancer was analysed for the first time.

Material and Methods: A series of 304 archival samples, including 125 squamous cell carcinomas (SCC) and 179 CIN lesions, were subjected to immunohistochemical staining for p16^{INK4a} antibody, and HPV testing using PCR with three primer sets (MY09/11, GP5*/GP6*, SPF). Follow-up data were available of 71 SCC patients, and 67 of the CIN lesions had been followed-up with serial PCR after cone treatment.

Results: HR-HPV were closely associated with CIN (OR 19.12; 95%CI 2.31-157.81) and SCC (OR 27.25; 95%CI 3.28-226.09). There was a significant linear relationship between the lesion grade and intensity of p16^{INK4a} staining (p=0.0001). The expression of p16^{INK4a} was also closely related to HR-HPV (p=0.0001). p16^{INK4a} staining was a 100% specific indicator of CIN, with 100% PPV, and showed 83.5% sensitivity and 80.1% PPV in detecting HR-HPV. However, p16^{INK4a} staining did not predict clearance or persistence of HR-HPV after treatment of CIN. Importantly, p16^{INK4a} staining was a significant predictor of favourable prognosis in cervical cancer, both in univariate (p=0.006) and multivariate survival analysis (p=0.003). After adjustment for age, HR-HPV, and metastases in the Cox regression model, OR 0.219 (95%CI 0.083-0.580) indicates that positive p16^{INK4a} is highly protective against cancer death. This predictive power is equal to that (p=0.003) of distant metastases, which had a lower adjusted OR 2.98 (95%CI 1.463-6.074), however.

Conclusions: In our multivariate model (missing FIGO stage), the prognostic power of p16^{INK4a} was equal to that of distant metastases. Whether the prognostic value of p16^{INK4a} staining can compete with the known high predictive power of FIGO stage in cervical cancer, remains to be seen in controlled future studies.

P171

VACCINAZIONE ANTI-EPATITE B NEGLI ADOLESCENTI: ESITI DOPO 11 ANNI

A. Gabbuti¹, A. Degli Esposti¹, P.L. Blanc¹, C. Galli², F. Mazzotta¹

¹Malattie Infettive, Ospedale S. Maria Annunziata, Firenze;

²Abbott Divisione Diagnostici, Roma

Lo scopo del nostro lavoro è stato di valutare l'efficacia della vaccinazione e la persistenza di livelli protettivi di anti-HBs in una coorte di adolescenti dell'area fiorentina.

Pazienti e metodi: lo studio è stato condotto su 469 adolescenti (215 maschi e 264 femmine; età media 11,7 ± 0,4 anni) vaccinati nel 1992; un mese dopo il completamento del ciclo vaccinale (3 dosi a T0, T1 e T6) i soggetti sono stati testati per anti-HBs (Ausab EIA, Abbott). Una prima verifica dei titoli di anti-HBs è stata effettuata con lo stesso metodo nel 1999, mentre nel 2003 sono stati valutati sia l'anti-HBs che l'anti-HBc con metodica MEIA (IMx Ausab e Core, Abbott). I valori di anti-HBs sono espressi da entrambi i metodi in mUI/mL, con livelli protettivi ≥10.

Risultati: I valori di anti-HBs nel 1992 erano disponibili per per 462 soggetti (98,5%); di questi, 351 (76%) sono stati controllati nel 1999 e 263 (56,9%) nel 2003. Nel 1992 tutti tranne uno presentavano livelli ≥10 di anti-HBs, l'80,2%

aveva livelli superiori a 1.000 mUI/mL e la media era di 4.880 mUI/mL. Dopo 7 anni, il 93,2% dei soggetti era ancora positivo per anti-HBs con titoli protettivi. Dopo 11 anni nessuno dei 262 soggetti controllati era positivo per anti-HBc, mentre il 91,3% era positivo per anti-HBs con valori >10 mUI/mL, e il 16,6% con livelli ≥1.000. Il decremento medio di anti-HBs dopo 11 anni era di 1,41 ± 0,47 log₁₀ 10 mUI/mL, ed era proporzionale ai livelli iniziali.

Conclusioni: in questa coorte di adolescenti la vaccinazione anti-HBV ha mostrato un'efficacia del 100%. Il calo dei livelli di anti-HBs è risultato correlato con il livello di picco rilevato un mese dopo la 3° dose di vaccino. Visti i compimenti epidemiologici indotti dalla vaccinazione obbligatoria è necessaria la valutazione degli studi sulla memoria immunitaria per proporre o meno una dose di richiamo nei soggetti con <20 mUI/mL di anti-HBs, che erano il 12% del totale.

P172

DETERMINAZIONE DI HCMV IN PAZIENTI TRAPIANTATI; COMPARAZIONE TRA COBAS CMV MONITOR ROCHE, "IN HOUSE" REAL-TIME PCR E ANTIGENEMIA PP65

Biasiolo M.A., Campion L., Kraniotaki E., Mengoli C., Cusinato R.

Dipartimento di Istologia, Microbiologia e Biotecnologie Mediche
 UO Microbiologia e Virologia
 Complesso Convenzionato
 Azienda Ospedaliera-Università Padova

La diagnosi precoce delle infezioni da Cytomegalovirus (CMV) è uno dei principali obiettivi nel monitoraggio dei pazienti trapiantati. La ricerca quantitativa della viremia è uno dei parametri decisionali per l'inizio di terapia specifica ("preemptive therapy") e per il monitoraggio del successo terapeutico. Il metodo maggiormente impiegato è la ricerca dell'Ag pp65 nei leucociti polimorfonucleati del sangue periferico. Recentemente si sono affermati metodi molecolari per la determinazione della carica virale. In tale ambito presentiamo i risultati di uno studio comparativo tra antigenemia pp65 e due metodi molecolari quantitativi, Cobas Amplicor CMV Monitor (Roche) ed "in house" Real-Time PCR.

Sono stati esaminati 154 campioni provenienti da 127 pazienti sottoposti a trapianto di organo solido (cuore, fegato, rene, polmone) e midollo. La determinazione dell'Antigenemia è stata fatta su preparati di 200.000 leucociti, mentre la CMV-DNA è stato quantificato su preparazioni di PBLs, ed il risultato veniva espressa come N° di copie genomiche/10⁶ cellule. L'estrazione degli acidi nucleici è stata eseguita manualmente, secondo protocollo, per Amplicor mentre per la Real-Time PCR si è ricorso ad un sistema automatizzato (stazione robotizzata multiprobe II HT exp. Perkin Elmer Lifescience). In RT-PCR la valutazione dell'idoneità dei campioni è stata confermata coamplificando con CMV-DNA un frammento genico della beta-globina.

Sono risultati positivi 27 campioni all'antigenemia, 38 con Cobas Amplicor e 54 con Real-Time PCR. Rispetto a pp65, Cobas Amplicor e Real-Time PCR hanno dimostrato valori di **concordanza del 92.9% e 82.5%, sensibilità 100% e 100%, specificità 91.3% e 78.7%, PPV 71.1% e 50% e NPV di 100% e 100%** rispettivamente.

I risultati ottenuti dimostrano la validità dei sistemi molecolari quantitativi indagati, soprattutto in termini di sensibilità, se paragonati a pp65. Il loro impiego nella routine diagnostica può risultare utile sia per una diagnosi precoce che nel