

108

UTILIZZO DI SANGUE INTERO ESSICCATO SU CARTONCINO PER LA DETERMINAZIONE QUANTITATIVA DI HIV-1 RNA

Marconi A.¹, Gennari W.², Tagliacucchi S.², Comastri G.³, Pulvirenti F.R.³, Pecorari M.², Zazzi M.¹

¹Sezione di Microbiologia, Università di Siena,

²Sezione di Microbiologia e Virologia, Policlinico di Modena,

³Abbott Molecular, Roma

Introduzione. La determinazione della carica virale di HIV-1 su sangue intero essiccato su cartoncino ("Dried Blood Spot" o DBS) presenta dei vantaggi di ordine pratico rispetto al plasma liquido (PL) ed è particolarmente indicata nei paesi in via di sviluppo. Lo scopo del nostro studio è stato quello di verificare l'utilizzo di DBS con il dosaggio Abbott RealTime HIV-1, un test che impiega un particolare formato di tecnologia real-time ("partially double stranded probe"), sviluppato appositamente per tollerare la diversità genetica di HIV-1.

Metodi. Sono stati analizzati, per ciascuno dei 169 soggetti con infezione da HIV-1 inclusi nello studio, un campione di PL e uno di DBS. I campioni di PL sono stati testati con il dosaggio Abbott RealTime HIV-1 (protocollo con volume iniziale da 1.0 mL), utilizzando il sistema strumentale Abbott m2000, che prevede estrazione degli acidi nucleici, preparazione e dispensazione della mastermix in totale automazione (m2000sp), seguiti da amplificazione e rivelazione in real-time (m2000rt). I campioni di DBS (Whatman 903) sono stati conservati, prima del dosaggio, a temperatura ambiente per un tempo mediano di 26 giorni (range: 1-170). Per ogni paziente sono stati impiegati due spot da 50 microlitri, ottenuti con un punzonatore ed eluiti con tampone di lisi (kit di estrazione m2000sp). Il surnatante è stato poi analizzato con il sistema m2000sp/m2000rt (protocollo da 1,0 mL).

Risultati. I campioni di DBS sono risultati positivi nel 90%, 94,7% e 100% dei campioni con viremia plasmatica compresa tra 2,3 e 3,0; 3,0 e 4,0; 4,0 e 6,1 log copie/mL, rispettivamente. L'analisi di regressione lineare ha mostrato un coefficiente di correlazione r di 0,871. La differenza (media \pm DS) tra DBS e PL è stata di 0,01 \pm 0,39 log copie/mL. Il 78,52% (128/163) e il 99,4% (162/163) dei campioni hanno presentato differenza inferiore a 0,5 e 1,0 log, rispettivamente. La differenza DBS-PL non è correlata con il tempo di conservazione dei DBS ($R^2 = 0,0008$ e 0,0451 per i due gruppi di campioni provenienti dai due siti), a dimostrazione della stabilità dell'RNA di HIV-1 sui cartoncini Whatman 903.

Conclusioni. I campioni di DBS possono essere usati come mezzo di raccolta e conservazione del sangue nel monitoraggio dell'infezione da HIV e della risposta alla terapia antiretrovirale. La totale automazione, la capacità di rilevare e quantificare correttamente tutti i sottotipi virali e le eccellenti prestazioni mostrate in questo studio sui DBS, rendono il dosaggio Abbott RealTime HIV adeguato per la routine nei paesi in via di sviluppo con una elevata prevalenza di infezione da HIV-1.

109

EPISODIO EPIDEMICO DI GASTROENTERITE DA NOROVIRUS DI SOSPETTA ORIGINE ALIMENTARE IN UNA CASA DI RIPOSO.

Martinelli M¹, Medici MC¹, Calderaro A¹, Arcangeletti MC¹, Morelli A², Abelli LA¹, Portincasa P¹, Larini S¹, De Conto F¹, Pinardi F¹, Esteban MDP¹, Somenzi P¹, Preti S¹, Casula F¹, Dettori G¹, Chezzi C¹.

¹Dipartimento di Patologia e Medicina di Laboratorio, Sezione di Microbiologia, Università degli Studi di Parma, Viale Antonio Gramsci 14, 43100 Parma;

²Dipartimento di Salute Pubblica, Servizio di Igiene Pubblica, Unità Sanitaria Locale, Langhirano, Parma.

Introduzione. La trasmissione dell'infezione da norovirus (NoV) avviene attraverso il circuito fecale-orale, spesso veicolata da alimenti e acqua contaminati. Un episodio epidemico di gastroenterite acuta si è verificato presso una casa di riposo per anziani nella provincia di Parma, nei giorni immediatamente successivi ad un pranzo pre-natalizio organizzato nella stessa casa il 20 dicembre 2006.

Metodi. Tutti i soggetti che avevano manifestato diarrea (≥ 3 evacuazioni entro 24 ore) e/o vomito rientravano nella definizione di pazienti con gastroenterite. Di 127 partecipanti al pranzo (79 residenti, 24 operatori e 24 invitati) 61 sono stati intervistati (54 residenti non sono stati intervistati in quanto non attendibili). Campioni di feci sono stati raccolti da 31 soggetti (12 sintomatici, 8 asintomatici e 11 residenti non attendibili). Le feci sono state sottoposte a indagini batteriologiche, parassitologiche e virologiche per la ricerca dei comuni agenti di enterite e a nRT-PCR per la ricerca di NoV.

Risultati. L'episodio ha coinvolto almeno 35 soggetti (tasso di attacco: 57,4%). Di questi, 21 erano residenti, 8 operatori e 6 invitati. Nel 94,3% dei casi la gastroenterite è comparsa entro 48 ore dal pranzo pre-natalizio. I sintomi sono stati vomito nell'80%, diarrea nel 60%, nausea nel 40%, febbre nel 22,8% e addominalgia nel 25,7%. Il cibo servito al pranzo pre-natalizio è stato sospettato quale veicolo della trasmissione dell'infezione. Tuttavia nessun alimento in particolare è stato dimostrato associato alla malattia.

NoV è stato rivelato in 24 (77,4%) soggetti: 12 sintomatici, 6 asintomatici (3 dei quali erano operatori di cucina) e 6 residenti non attendibili. L'analisi delle sequenze degli ampliconi di NoV ha rivelato trattarsi di ceppi riferibili allo stesso genotipo.

Conclusioni. La curva epidemica e l'identità di sequenza dei ceppi di NoV rivelati supportano l'ipotesi di una comune sorgente di infezione. È verosimile che il cibo sia stato contaminato dagli operatori di cucina infettati e asintomatici poco rispettosi delle norme igieniche per la manipolazione del cibo.