

080

VALUTAZIONE DEL DOSAGGIO ABBOTT REAL-TIME HIV-1

Sestilli P.¹, Vecchi M.¹, Marinelli K.¹, F.R. Pulvirenti²,
Bagnarelli P.¹

¹Laboratorio di Virologia, Istituto di Microbiologia e
Scienze Biomediche, Università Politecnica delle Marche, Ancona.
²Abbott Molecular, Roma

Introduzione. Abbiamo valutato le prestazioni del nuovo dosaggio Abbott Real-Time HIV-1 RNA quantitativo basato su estrazione automatica e chimica non esonucleasica (strand-displacement probe). Questo formato dovrebbe garantire robustezza nei confronti di eventuali "mismatches" presenti nella regione di ibridizzazione del probe. Il range dinamico del test (protocollo con volume iniziale di 1 mL) è compreso tra 40 e 10⁷ copie/mL. Lo studio è stato eseguito con volume iniziale di 0,5 mL (sensibilità 75 copie/mL). **Metodi.** Sono stati analizzati 79 campioni retrospettivi da 60 pazienti con infezione da HIV, il cui monitoraggio della carica virale era stato effettuato con il test b-DNA v.3 (Bayer). **Risultati.** Considerando il limite di sensibilità di 75 e 50 copie per Abbott e b-DNA rispettivamente, la concordanza qualitativa dei dosaggi era pari al 93,7% (74/79) con 3 risultati Abbott positivi/b-DNA negativi (range 80-154 copie/mL) e 2 bDNA positivi/Abbott negativi (277 e 811 copie/mL). Vi erano inoltre 3 campioni con risultato Abbott <75 copie/mL ma con target rilevato, che erano <50 copie/mL con b-DNA. Per i 59 campioni quantificabili con entrambi i metodi, la retta di regressione lineare tra i valori Abbott (y) e b-DNA (x) aveva equazione $y = 0,921x + 0,573$ ($r = 0,882$). Il 71% e il 93% dei campioni mostrava una differenza compresa entro 0,5 ed 1,0 log rispettivamente, con una differenza media Abbott-bDNA di 0,27 log (DS=0,48log). Analizzando separatamente i campioni in base alla provenienza geografica, differenza media e coefficiente di correlazione r erano 0,12 log/0,834 per i soggetti di nazionalità italiana e di 0,41 log/0,967 per quelli non italiani (in prevalenza africani). **Conclusioni.** Il dosaggio Abbott Real-Time ha mostrato una buona correlazione ed una sostanziale equivalenza con il test b-DNA v.3. La differenza media dei valori osservati sembra essere influenzata dalla provenienza geografica dei campioni.

081

SVILUPPO DI UNA PCR QUANTITATIVA COMPETITIVA PER LA DETERMINAZIONE DELLA CARICA VIRALE DEL CITOMEGALOVIRUS E CONFRONTO CON L'ANTIGENEMIA, LA VIREMIA E IL NASBA

¹Bergallo M., ¹Costa C., ¹Merlino C., ¹Forgnone F.,
¹Piasentin E., ¹Negro Ponzi A., ²Segoloni G. P., ¹Cavallo R.

¹Dipartimento di Sanità Pubblica e Microbiologia,
Laboratorio di Virologia, Università di Torino;

²Dipartimento di Medicina Interna, Unità Trapianto Rene,
Ospedale Molinette, Torino.

Introduzione. L'infezione da HCMV rappresenta la princi-

pale causa di morbilità e mortalità in seguito a trapianto renale. Le principali tecniche di diagnosi virologica sono: la dimostrazione diretta dell'antigene tardivo pp65 dell'HCMV nei granulociti polimorfonucleati circolanti (PMNL) (Antigenemia) e la dimostrazione dell'antigene immediato-precoce p72 nei fibroblasti di polmone embrionario umano infettati con i granulociti circolanti (Viremia). Sono state inoltre introdotte tecniche di biologia molecolare per la dimostrazione degli acidi nucleici virali nel sangue periferico: la PCR quantitativa per la dimostrazione della carica virale nel sangue periferico e la dimostrazione degli RNA messaggeri (m-RNA) nei leucociti circolanti.

Metodi. Lo scopo del presente lavoro è stato quello di sviluppare una PCR quantitativa-competitiva (QC-PCR) per la valutazione della carica virale dell'HCMV, basata sulla co-amplificazione del DNA bersaglio e di un competitore, con funzione di standard interno.

Sono state effettuate prove di validazione del sistema bersaglio-competitore e la quantificazione del DNA dell'HCMV è stata effettuata mediante analisi densitometrica delle migrazioni elettroforetiche.

Questa metodica validata è stata quindi utilizzata per quantificare l'HCMV-DNA in 40 pazienti (28 maschi e 14 femmine) sottoposti a trapianto renale.

Tale approccio diagnostico in questi pazienti è stato infine correlato con altre metodiche utilizzate nel nostro laboratorio: l'antigenemia, la viremia e la ricerca dell'mRNA-pp67 mediante Nucleic Acid Sequence-Based Amplification (NASBA).

Risultati. L'elaborazione statistica dei nostri dati ha permesso di rilevare una correlazione significativa tra il numero di PMNL positivi all'antigenemia e il numero di copie di genomi virali e tra la rilevazione dell'mRNA-pp67 e la carica virale e non significativa tra la viremia e la carica virale.

Conclusioni. In conclusione, nella nostra esperienza, l'impiego della QC-PCR da noi elaborata, affiancata all'antigenemia, può rappresentare un'ulteriore tecnica quantitativa per diagnosticare l'infezione attiva da HCMV in modo da iniziare il trattamento antivirale e monitorarne gli effetti nei pazienti immunodepressi.

082

VIRUS DI EPSTEIN-BARR E LINFOMI PRIMITIVI CUTANEI: VALUTAZIONE DELLA CARICA VIRALE MEDIANTE PCR QUANTITATIVA-COMPETITIVA (QC-PCR) SU BIOPSIA

Bergallo M., Costa C., Novelli M.* , Ponti R.* , Fierro M.T.* ,
Margio S., Bernengo M.G.* , Merlino C., Cavallo R.

Dip. Sanità Pubbl. e Microbiol., Lab. Virologia,

* Dip. Scienze Biom. Oncol. Umana, Sez. Dermatol.,
Lab. Immunopatol. Cutanea; Università di Torino

Introduzione. La micosi fungoide (MF) è il più frequente linfoma primitivo cutaneo a cellule T (CTCL) epidermotropo, generalmente confinato alla cute e con andamento clinico spesso indolente, mentre la sindrome di Sezary (SS) è un CTCL sistemico con prognosi nettamente peggiore. Per la loro eziopatogenesi, ancora ignota, sono stati suggeriti fattori genetici, ambientali e infettivi. Recentemente retrovirus quali HTLV-I e herpesvirus umani sono stati coinvolti sia per