
095

**VALUTAZIONE DELLA CARICA VIRALE DEL
CITOMEGALOVIRUS UMANO (HCMV)**Bergallo M., Merlino C., Tarallo S., Forgnone F., Sinesi F.,
Baro S., La penna A., Negro Ponzi A., Cavallo R.*Dip. di Sanità Pubblica e Microbiologia, SCDU Virologia,
Università di Torino*

L'infezione da HCMV rappresenta la principale causa di morbilità e mortalità in seguito a trapianto renale. In questi soggetti pertanto è importante utilizzare tecniche diagnostiche rapide e sensibili per iniziare al più presto la terapia antivirale specifica e per modulare la terapia immunodepressiva. Le tecniche di diagnosi virologica comunemente utilizzate sono rappresentate dalla dimostrazione diretta dell'antigene tardivo pp65 nei granulociti polimorfonucleati circolanti (antigenemia) e dall'isolamento rapido in coltura da sangue periferico (viremia). Sono state inoltre introdotte tecniche di biologia molecolare per la dimostrazione degli acidi nucleici virali nel sangue. La PCR qualitativa si è dimostrata più sensibile rispetto all'isolamento virale o addirittura alla antigenemia-pp65, d'altro canto, risulta positiva nei pazienti asintomatici e anche nel caso di infezione latente da HCMV. L'utilizzo di PCR quantitativa per la dimostrazione della carica virale nel sangue periferico si è invece rivelata un valido strumento diagnostico.

Nel presente lavoro viene descritta la messa a punto di una QC-PCR allo scopo di seguire l'andamento della carica dell'HCMV-DNA nel sangue periferico. La metodica è basata sulla coamplificazione del DNA bersaglio e della stessa sequenza modificata che funge da competitore (standard interno). In aggiunta, non richiede l'uso di costosi strumenti come la real-time PCR. In particolare, nella nostra metodica, che prevede l'analisi densitometrica dell'intensità delle bande, il DNA competitore di differenzia dal DNA bersaglio per l'aggiunta di una sequenza di 86 bp ottenuta con la tecnica del DNA ricombinante e può essere facilmente distinto dal bersaglio mediante gel-elettroforesi. La riproducibilità dei risultati è stata confermata in esperimenti multipli con quantità di HCMV-DNA bersaglio tra 10 e 10.000 copie/reazione. In conclusione, la metodica da noi sviluppata si è rivelata affidabile, di rapida esecuzione, poco costosa e può rappresentare un ulteriore strumento diagnostico quantitativo da affiancare alle metodiche in uso per la diagnosi di infezione da HCMV nelle categorie a rischio.
