

comunicazioni orali

SESSIONE 7

Il laboratorio di Microbiologia e il Bioterrorismo

Giovedì 10 giugno 2004, 14.45-16.45, Sala F

CO7.1

ALLESTIMENTO DI UNA PCR MULTIPLEX PER LA DIAGNOSI RAPIDA DI INFEZIONE DA ORTHOPOXVIRUS, HSV E VZV.

Carletti F.* , Horejsh D.* , Di Caro A.* , Grolla A.† , Czub M.† , Petrosillo N.* , Ippolito G.✓ , Capobianchi M.R.*

* Laboratorio di Virologia INMI 'Lazzaro Spallanzani'

* II° Divisione Clinica INMI 'Lazzaro Spallanzani'

✓ Dipartimento di Epidemiologia INMI 'Lazzaro Spallanzani'

† Laboratorio Nazionale di Microbiologia,

Winnipeg, Canada.

Scopo: Lo spettro di un possibile attentato bioterroristico è frequentemente richiamato dalla cronaca nazionale ed internazionale. Tra gli agenti virali adatti ad un rilascio deliberato, il virus del vaiolo occupa sicuramente una posizione preminente. Lo scenario ipotizzabile sarebbe caratterizzato da un'elevata mortalità e morbilità, dovuta all'assenza di anticorpi nella popolazione più giovane, e alla difficoltà nel formulare precocemente una diagnosi eziologica. Dato il ritardo intercorrente tra l'inizio dell'infezione e la comparsa degli anticorpi, è necessario puntare allo sviluppo di metodi che consentano una rapida rilevazione dell'agente. L'isolamento virale su colture di tessuto è eseguibile solo in laboratori di massimo contenimento biologico. Le tecniche di biologia molecolare, sono preferibili in quanto associano, ad una elevata sensibilità e specificità, la possibilità di essere condotte anche in strutture che non posseggano tali laboratori. Pertanto abbiamo allestito una PCR multiplex in grado di rilevare, oltre alla presenza di Vaiolo e di altri Orthopoxvirus (OPV), anche HSV1, HSV2 e VZV, i

principali agenti virali coinvolti nella diagnosi differenziale.

Metodi: Sono stati disegnati tre set di primer caratterizzati da un comune profilo termico e pertanto utilizzabili con le stesse condizioni di amplificazione. Le regioni amplificate appartengono al gene *crmB* degli OPV all' ORF 29 di VZV e alla DNA polimerasi di HSV-1 e HSV-2. La sensibilità e specificità sono state determinate rispettivamente su standard molecolari e su campioni biologici.

Risultati e conclusioni: Il metodo da noi allestito è risultato rapido, sensibile e specifico. Le differenti specie di OPV possono essere identificate mediante successiva analisi con RFLP o sequenziamento. Il metodo può essere utile anche per identificare eventuali epidemie di OPV diverse dal Vaiolo ed è eseguibile in condizioni di basso rischio biologico.