

zione delle "nuove" positività per anti-HIV, che però possono rappresentare vecchie infezioni non note in precedenza. In questo studio abbiamo adottato un nuovo indice sierologico (indice di avidità anti-HIV¹) per valutare la frequenza di infezioni recenti in pazienti sieropositivi.

Pazienti e metodi: lo studio è stato condotto su tutti i soggetti con nuova diagnosi di infezione da HIV (positività per anticorpi non rilevata in precedenza) pervenuti nell'arco di 9 mesi, da maggio 2003 a gennaio 2004. I campioni di siero sono stati testati per anti-HIV con AxSYM HIV1/2gO (Abbott Diagnostici); i campioni reattivi sono stati sottoposti a conferma con Western blot, e sui campioni positivi o indeterminati al WB è stato valutato l'indice di avidità (IA) con lo stesso test di screening, mediante analisi di due aliquote diluite 1:10 rispettivamente in guanidina e tampone. I risultati dell'IA sono stati confrontati con la intensità del segnale del test di screening (S/CO) e con i "patterns" di reattività in WB, un valore di IA $\leq 0,80$ è stato considerato discriminante per le infezioni recenti (<6 mesi). **Risultati** Nel periodo di osservazione sono stati testati per anti-HIV 10.500 soggetti, e di questi 205 (2%) sono risultati "nuovi" reattivi al test di screening e positivi o indeterminati al WB. La valutazione dell'IA ha identificato 45 soggetti su 205 (21,9%) come "recenti infetti". Un AI $\leq 80\%$ era rilevabile in tutti i soggetti con S/CO <10 allo screening, nel 75% di quelli con S/CO tra 10 e 20, nel 18% di quelli con S/CO tra 20 e 30 e anche nel 4% di quelli con S/CO >30. Un WB indeterminato o un "pattern" WB con negatività per anti-gp41 (25/28; 89,3%) erano predittivi di un basso AI.

Conclusioni. Le infezioni recenti da HIV tra i "nuovi" positivi per anticorpi appaiono molto frequenti (22%); la valutazione dell'IA è semplice e appare più sensibile di una bassa reattività (≤ 20 S/CO) al test di screening, che avrebbe mancato di identificare almeno un terzo dei casi recenti.

BIBLIOGRAFIA

1. Suligoi B. et al, J Clin Microbiol 2002; 43(11):4015-4020.

P164

RICERCA DI HPV-DNA MEDIANTE NESTED-PCR. NEI BRUSH LINGUALI DI SOGGETTI SANI

Caldarelli-Stefano R., Avezzu S., Molina V.

Laboratorio Analisi, CAM, Monza (MI),
sez. Diagnostica Molecolare,

Recentemente nel nostro laboratorio abbiamo isolato un papillomavirus umano (HPV) dall'epitelio linguale di un giovane adulto, fumatore accanito (oltre 2 pacchetti di sigarette/die) che presentava una proliferazione papillomatosa linguale diffusa, appartenente al gruppo dei genotipi ad alto rischio.

A seguito di questo ritrovamento, supportato da dati della letteratura che indicano che i papillomavirus causano tumori benigni nel tratto respiratorio, abbiamo deciso di indagare sulla presenza di HPV-DNA nelle sue possibili sedi di infezione, in particolare sulla lingua.

È stato quindi ricercato l'HPV-DNA in soggetti sani, suddivisi essenzialmente in due gruppi, fumatori e non fumatori, in quanto sembra che il fumo di sigaretta sia un fattore di rischio associato alla presenza di HPV.

In campioni di brush linguale è stata effettuata l'estrazione del DNA, a cui è seguita la ricerca di HPV mediante nested-PCR ('home-made') della regione L1 con primers consensus.

Nessuno dei 40 campioni fin'ora analizzati è risultato esse-

re positivo per la presenza di HPV sulla lingua.

Di questi, 38 appartengono alla categoria 'non fumatori' e solo 2 ai 'fumatori' (massimo un pacchetto di sigarette/die). Sono in corso di valutazione i soggetti fumatori.

Questi dati, ancora preliminari, sembrano dimostrare che l'HPV non sia ampiamente diffuso nella popolazione umana sana, a livello dell'epitelio linguale.

P165

PRESENZA DI HPV-DNA GENOTIPO 16 NELL'EPITELIO LINGUALE DI UN GIOVANE ADULTO ITALIANO: UN CASE REPORT

Caldarelli-Stefano R., Azzara A., Gironi A.

Laboratorio Analisi, CAM, Monza (MI),
sez. Diagnostica Molecolare,

I papillomavirus umani (HPV) sono virus oncogeni con uno spiccato tropismo per le cellule epiteliali squamose. Sono responsabili di lesioni cutanee benigne, come le verruche, o lesioni che possono evolvere in displasie severe e neoplasie, in particolare nell'epitelio cervicale, nella vescica o nella laringe. Descriviamo un caso di un giovane adulto, quarantenne, italiano, fumatore accanito, che presenta infezione da HPV diffusa. Il paziente è giunto alla nostra attenzione a causa di una fastidiosa papillomatosi presente sulla mucosa linguale. Dopo prelievo biotipico, la diagnosi istologica ha suggerito la presenza di papillomatosi con aspetti citopatici da HPV.

Un brush linguale ha permesso la ricerca del DNA di HPV, e tramite nested-PCR ('home-made') della regione L1 con primers consensus, il campione si è rivelato positivo. La successiva tipizzazione genomica con ibridazione su strip (Innolia, Innogenetics) ha evidenziato la presenza del genotipo 16, considerato ad alto rischio.

Ad un'anamnesi più approfondita, il paziente ha rivelato di essere stato operato pochi anni prima di un 'carcinoma 'in situ' della vescica, di cui purtroppo non è stato possibile analizzare il pezzo operatorio.

Un successivo prelievo di sangue periferico in contemporanea ad un nuovo brush linguale ha dimostrato in entrambi i campioni la presenza di HPV-DNA, dello stesso genotipo virale, dimostrando la diffusione sistemica del virus.

In definitiva, questi dati, pur non avendo conferma che il carcinoma vescicale presentasse HPV-DNA, dimostrano come l'infezione da papillomavirus non vada sottovalutata e che i pazienti che risultano positivi per un'infezione, anche seppur localizzata, devono essere seguiti nel tempo.

P166

FOLLICOLITE DA HERPES SIMPLEX VIRUS-TIPO 2: CASE REPORT.

Calvario* A., Scarasciulli M.L.*, Bozzi A.*, Ventola C.*, Seccia R.*, Caterina Foti[^]

* Laboratorio di Virologia, U.O. Igiene, Epidemiologia e Sanità Pubblica II, Policlinico, Azienda Ospedaliera Policlinico Bari
[^] Dipartimento di Medicina Interna, Immunologia e Malattie Infettive, U.O. Dermatologia, Azienda Ospedaliera Policlinico Bari

Herpes Simplex Virus (HSV) è un termine usato per descrivere un virus neurotrofico, a DNA, appartenente alla sottofamiglia degli α -herpesvirinae di cui si conoscono due sierotipi, HSV tipo 1 (HSV-1) e HSV tipo 2 (HSV-2). Entrambi i

sierotipi, pur presentando significative differenze genomiche, sono responsabili di patologie clinicamente simili e quindi di difficile interpretazione diagnostica; entrambi sono coinvolti in infezioni che interessano i tessuti mucocutanei, in particolar modo volto e genitali.

La cute integra oppone un'efficace barriera verso i virus erpetici che invece sono facilmente veicolati dalla presenza di soluzioni di continuo o lesioni di varia natura. In tali circostanze HSV produce generalmente infezioni modeste e autolimitanti. Discriminante è lo stato immunitario dell'ospite che influenza sia l'insorgenza che la severità dell'episodio infettivo.

Rari sono i casi di follicolite erpetica, in soggetti normali, riportati in letteratura nei quali peraltro non si precisa la natura eziologica di HSV probabilmente a motivo della mancanza di diagnostica differenziale.

L'introduzione di tecniche molecolari in campo virologico ha determinato una svolta nella diagnosi anche di casi di rara osservazione clinica e ad eziologia incerta.

Nel nostro caso, paziente immunocompetente di 52 anni affetto da follicolite ricorrente sulla guancia destra associata a intenso dolore, la ricerca del genoma virale con PCR ha permesso di identificare HSV-2 quale agente eziologico della patologia in esame.

Il paziente era affetto da tale patologia da sette anni, con episodi che in passato ricorrevano 2 volte l'anno, ma che di recente si manifestavano più frequentemente.

Esami batteriologici e micologici eseguiti su tamponi cutanei delle lesioni erano risultati negativi.

Nel luglio 2003 il paziente si è presentato ai clinici con una storia di eruzione follicolare da 5 giorni, dolore intenso e linfadenopatia della regione sottomandibolare sinistra. All'esame obiettivo si osservavano numerose lesioni follicolari senza presenza di vescicole e di segni tipici di infezione virale.

Il test di Tzanck era negativo. L'esame istologico mostrava leggera acantosi dell'epidermide e abbondante infiltrato perivascolare e perifollicolare nel derma adiacente alle aree in evoluzione suppurativa.

Sono state avviate indagini molecolari su campioni di siero, leucociti da sangue periferico (PBL), tamponi superficiali e sezioni istologiche paraffinate provenienti dalle lesioni del volto.

La ricerca di HSV-1, HSV-2 e VZV, i 3 virus erpetici presumibilmente coinvolti nel caso patologico in esame, è stata eseguita mediante l'utilizzo di nested PCR secondo i protocolli indicati dal Produttore Amplimedical Argene-Bioline.

L'analisi molecolare del siero e dei PBL è risultata negativa. Per quanto riguarda i tamponi superficiali e le sezioni istologiche provenienti dalle lesioni del volto sono entrambi risultati positivi per HSV-2.

Dopo trattamento antivirale specifico per via sistemica, si riscontrava guarigione delle aree lese e al follow-up di sei mesi il paziente non riferiva recidive.

Il caso riportato offre interessanti spunti di riflessione in quanto mostra come, anche in pazienti immunocompetenti, le lesioni da HSV-2 possono avere aspetti clinici atipici ed essere erroneamente confuse come infezioni batteriche o fungine. Pertanto la PCR sembra essere uno strumento diagnostico di grande ausilio per la diagnosi di infezione erpetica anche quando le caratteristiche cliniche e istologiche non appaiono suggestive di infezione virale.

P167

INFEZIONE CONGENITA DA CMV E SORDITA' NEUROSENSORIALE NELLA REGIONE PUGLIA.

Calvario A*, Scarasciulli M.L.*, Germinario C*,
Manziona M.A., De Cosmo L.A., Salonna I., Bartoli R.
Manigrasso V°. Papadia F.*, Simonetti S.*.

*Dipartimento Medicina Interna e Medicina Pubblica -
U.O. Igiene, Epidemiologia e Sanità Pubblica II,
Università degli Studi - Policlinico, Bari

^U.O. Neonatologia, Policlinico - Bari

° Dipartimento Oftalmologia e Otorinolaringoiatria - Sezione di
Otologia e Audiologia U.O. ORL "G.Lugli",

Università degli Studi-Policlinico, Bari

**Centro Regionale di Screening U.O. Malattie Metaboliche e
Genetica Clinica - ASL Giovanni XXIII-DiVenere-Bari

Nell'ambito di un co-finanziamento MIUR è stato condotto in Lombardia, Emilia-Romagna, Sardegna e Puglia uno studio volto a definire le caratteristiche epidemiologiche, virologiche e di impatto sulla sanità pubblica dell'infezione congenita da Cytomegalovirus (CMV) utili per la formulazione e la valutazione di interventi di prevenzione.

Relativamente alla popolazione pugliese ciò ha consentito di valutare la prevalenza dell'infezione congenita da CMV e la sua correlazione con la frequenza di sordità neurosensoriale (SNS), la più comune sequela dell'infezione.

Materiali e metodi

Fase prospettica.

Sono stati arruolati 1481 neonati nati nell'U.O. Neonatologia del Policlinico di Bari nel periodo 2002-2003.

Per ogni neonato è stata allestita in terza giornata la Guthrie Card analizzata presso il laboratorio di Virologia dell'U.O. di Bari mediante DBS test, una metodica innovativa che prevede estrazione del DNA di CMV dal sangue essiccato e successiva amplificazione in PCR.

In caso di positività, confermata mediante isolamento virale delle urine prelevate entro la terza settimana di vita, i neonati erano inseriti in un programma di follow-up audiologico per l'accertamento di danni uditivi tramite ABR.

Fase retrospettiva

Per lo studio retrospettivo, su segnalazione degli audiologi dello stesso nosocomio, il DBS test è stato eseguito su Card, recuperate dal Centro regionale di screening, appartenenti a bambini (età 3 mesi-5 anni) con sordità mono o bilaterale con soglia ≥ 40 dBHL.

Risultati

Per quanto riguarda lo studio prospettico, su 1481 Guthrie Card esaminate, 9 (0.6%) sono risultate positive al DBS test; nessun caso positivo è stato confermato con l'isolamento culturale su urine né ha manifestato infezione da CMV.

Per lo studio retrospettivo, su 17 bambini affetti da sordità neurosensoriale 9 (52.9%) presentavano DBS test positivo cui può essere attribuito il deficit auditivo riscontrato dagli specialisti. In 7 casi la perdita auditiva era bilaterale, in 5 casi con ABR assente e in 2 casi con ABR compreso fra 40 e 70 dBHL, rendendo necessario l'impianto cocleare o la protesi; gli altri 2 casi presentavano ipoacusia monolaterale con soglia maggiore o uguale a 70 dBHL.

I restanti 8 bambini ipoacustici con DBS test negativo, affetti da sordità bilaterale con ABR assente o ≥ 85 dBHL, risultavano asintomatici per CMV congenito ed erano giunti all'osservazione dei clinici per ritardo psicomotorio e del linguaggio; per 2 di questi è stata registrata familiarità per ipoacusia.

Considerazioni

La prevalenza dell'infezione congenita da CMV nella coorte