

dei neonati screenati è risultata inferiore a quella registrata su territorio nazionale (1,61%). Questo dato merita approfondimento poiché sembra non rispecchiare la realtà della intera regione: su 31 casi di neonati, nati nello stesso periodo dello studio, ospedalizzati in altri nosocomi regionali e giunti alla nostra attenzione, 10 sono risultati affetti da infezione congenita da CMV (dati in pubblicazione).

Per quanto riguarda invece la stima del ruolo dell'infezione congenita da CMV nell'eziologia della SNS, la frequenza è risultata pari al 52.9% relativamente alla totalità dei bambini sordi esaminati (9/17); di questi 4 erano senza causa di sordità o fattori di rischio noti, 4 presentavano sintomatologia severa per CMV (SGA, calcificazioni cerebrali, dilatazione ventricolare, ipotonia) e 1 sintomatologia misconosciuta per CMV.

## P168

### CORRELAZIONE FRA SIEROTIPO ED ANTIBIOTICORESISTENZE IN CEPPI DI *S. AGALACTIAE* D'ORIGINE BOVINA ED UMANA.

Calzolari M.<sup>1</sup>, Polese A.<sup>2</sup>, Bonilauri P.<sup>1</sup>, Merialdi G.<sup>1</sup>, Ricci L.<sup>2</sup>, Nanetti A.<sup>3</sup>, Gonfalonieri M.<sup>4</sup>, Dottori M.<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale Lombardia ed Emilia Romagna, sezione di Reggio Emilia.

<sup>2</sup>Laboratorio di Microbiologia A. O. "Santa Maria Nuova", Reggio Emilia.

<sup>3</sup>Laboratorio di Batteriologia A. O. "Sant'Orsola-Malpighi", Bologna.

<sup>4</sup>Laboratorio di Microbiologia A. O. "G. da Saliceto", Piacenza.

*Streptococcus agalactiae* può provocare mastite nei bovini e diverse patologie nell'uomo, in particolare meningiti neonatali. Sia i ceppi umani che bovini mostrano gli stessi antigeni polisaccaridici. Scopo della ricerca è stabilire quanto i ceppi di origine umana e bovina siano simili.

Sono stati testati in totale di 466 ceppi, 197 bovini, isolati in diverse sezioni dell'IZSLER, 269 umani, provenienti da 4 diversi ospedali emiliani (il 63,9% isolati da carriers e il 36,1% isolati da materiale patologico).

Di ogni ceppo è stata la individuata la MIC (Etest®) per sei antibiotici: benzilpenicillina, tetraciclina, eritromicina, clindamicina, cefalexina e trimetoprim più sulfamidico; inoltre sono stati tutti sierotipizzati tramite agglutinazione su vetrino (kit Denka-Seiken).

Sia la distribuzione dei sierotipi che la risposta agli antibiotici differenzia fortemente le due popolazioni.

Per quanto riguarda i ceppi umani il sierotipo predominante è il III (32%) seguito dal Ia (17,1%), nei ceppi bovini il sierotipo IV è di gran lunga il più abbondante (22,3%), seguito dal Ib e dal III (5,6%), inoltre fra questi ultimi si evidenzia un'alta percentuale di non tipizzabili (39,6%). Nessun ceppo è del VI e dell'VIII, 4 (uno dei quali bovino) sono del raro sierotipo VII.

Per quanto riguarda la risposta antibiotica tutti i ceppi sono sensibili alla benzilpenicillina. I ceppi umani mostrano percentuali maggiori di resistenti, in particolare alla tetraciclina, ma anche per gli altri antibiotici.

Sono emersi diversi fenomeni di multiresistenza, in particolare fra eritromicina, clindamicina e tetraciclina; inoltre fra tetraciclina e trimetoprim più sulfamidico.

Molto interessante è notare come alcuni sierotipi, in particolare il III e il V, mostrino, rispetto agli altri, maggiori percentuali di resistenti nella risposta semplice ad alcuni antibiotici e un maggior numero di ceppi multiresistenti. Occorre sottolineare che questi sierotipi sono stati anche indicati

come i più virulenti e diffusi nelle patologie umane provocate da *S. agalactiae*, in particolare nelle meningiti neonatali, inoltre il sierotipo V è, negli ultimi anni, in forte emergenza.

## P169

### DUE ANNI DI ESPERIENZA CON IL TEST NAT PER HCV/HIV-1. INCIDENZA PREVALENZA E RISCHIO RESIDUO IN PIEMONTE.

Chiara M, Ghiazza P, Demarin G, Demarchi G, Gariglio V, Martinelli A, Trivè M, Massaro A.L.

Dip.A-Medicina Trasfusionale, AO OIRM S.Anna-Torino.

**Introduzione:** In Italia lo screening NAT per la ricerca di HCV-RNA su tutte le unità di sangue trasfuse è obbligo di legge dal 29 Giugno 2002 (C.M 14 del 19.12.2001). Il Piemonte, recependo le raccomandazioni della C.M. 17 del 30.10.2000 e DGR 28-3449 del 9.07.2001, introdusse la ricerca di HCV-RNA nello screening trasfusionale a partire dal 1 Novembre 2001. In questo lavoro sono presentati i dati epidemiologici della popolazione di donatori afferenti ai SIT della Regione Piemonte dopo due anni dall'introduzione del test NAT.

**Metodi:** In Piemonte per lo screening NAT sono attivi 14 laboratori che eseguono la ricerca di HCV-RNA e HIV-1-RNA mediante due tecnologie diverse: Chiron Procleix e Roche Ampliscreen. Sono state calcolati per HCV e per HIV: l'incidenza, la prevalenza ed il rischio residuo RR.

**Risultati:** In due anni sono state testate 450000 unità di sangue per HCV-RNA e 300000 per HIV-RNA. La prevalenza per HCV è stata pari a 183.4/100000 donazioni nel 2002 e 139.4 nel 2003; mentre per HIV si sono registrati i seguenti tassi/100000 donazioni: 10.3 (2002) e 13.9 (2003). Nel 2002, l'incidenza di nuovi casi di infezione è stata di 1.86/100000 donazioni per HCV e di 0.83 per HIV; nel 2003 di 1.44 per HCV e di 1.28 per HIV per 100000 donazioni. Il RR calcolato nel 2002 è stato di 2.54/milione donazioni per HCV e di 0.96 per HIV; mentre nel 2003 di 1.87 per HCV e di 0.8 per HIV.

**Conclusioni:** questo è il primo lavoro in cui viene riportato il rischio residuo di trasfondere sangue infetto per HCV e/o HIV dopo due anni dall'introduzione del test NAT nello screening trasfusionale. I Tassi di incidenza e prevalenza nella popolazione di donatori in Piemonte sono confrontabili con quelli riportati dall'ISS per la regione estesa del Nord Italia.

## P170

### EXPRESSION OF p16INK4a IS A PROGNOSTIC FACTOR IN CERVICAL CANCER, RELATED TO GRADE OF CIN AND HIGH-RISK HUMAN PAPILLOMAVIRUS (HPV) BUT DOES NOT PREDICT VIRUS CLEARANCE AFTER CONE TREATMENT

Ciotti M., Paba P., Benedetto A., Branca M., Syrjänen K.<sup>1</sup>, Favalli C.

Laboratorio di Microbiologia e Virologia Clinica, Policlinico Universitario Tor Vergata

<sup>1</sup>Istituto Superiore di Sanità, Laborotio di Epidemiologia e Biostatistica, Roma

**Objective:** One of the molecular mechanisms interfering

with the p16<sup>INK4a</sup>/cyclin D/Rb pathway is inactivation of pRB through binding with E7 of the high-risk Human papillomavirus (HR-HPV). The role of p16<sup>INK4a</sup> as a marker of HR-HPV and in diagnosis of CIN has been well established, but its predictive value in a) clearance of the virus after CIN treatment, and b) as a prognostic marker of cervical cancer was analysed for the first time.

**Material and Methods:** A series of 304 archival samples, including 125 squamous cell carcinomas (SCC) and 179 CIN lesions, were subjected to immunohistochemical staining for p16<sup>INK4a</sup> antibody, and HPV testing using PCR with three primer sets (MY09/11, GP5<sup>+</sup>/GP6<sup>-</sup>, SPF). Follow-up data were available of 71 SCC patients, and 67 of the CIN lesions had been followed-up with serial PCR after cone treatment.

**Results:** HR-HPV were closely associated with CIN (OR 19.12; 95%CI 2.31-157.81) and SCC (OR 27.25; 95%CI 3.28-226.09). There was a significant linear relationship between the lesion grade and intensity of p16<sup>INK4a</sup> staining (p=0.0001). The expression of p16<sup>INK4a</sup> was also closely related to HR-HPV (p=0.0001). p16<sup>INK4a</sup> staining was a 100% specific indicator of CIN, with 100% PPV, and showed 83.5% sensitivity and 80.1% PPV in detecting HR-HPV. However, p16<sup>INK4a</sup> staining did not predict clearance or persistence of HR-HPV after treatment of CIN. Importantly, p16<sup>INK4a</sup> staining was a significant predictor of favourable prognosis in cervical cancer, both in univariate (p=0.006) and multivariate survival analysis (p=0.003). After adjustment for age, HR-HPV, and metastases in the Cox regression model, OR 0.219 (95%CI 0.083-0.580) indicates that positive p16<sup>INK4a</sup> is highly protective against cancer death. This predictive power is equal to that (p=0.003) of distant metastases, which had a lower adjusted OR 2.98 (95%CI 1.463-6.074), however.

**Conclusions:** In our multivariate model (missing FIGO stage), the prognostic power of p16<sup>INK4a</sup> was equal to that of distant metastases. Whether the prognostic value of p16<sup>INK4a</sup> staining can compete with the known high predictive power of FIGO stage in cervical cancer, remains to be seen in controlled future studies.

## P171

### VACCINAZIONE ANTI-EPATITE B NEGLI ADOLESCENTI: ESITI DOPO 11 ANNI

A. Gabbuti<sup>1</sup>, A. Degli Esposti<sup>1</sup>, P.L. Blanc<sup>1</sup>, C. Galli<sup>2</sup>, F. Mazzotta<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Malattie Infettive, Ospedale S. Maria Annunziata, Firenze;

<sup>2</sup>Abbott Divisione Diagnostici, Roma

Lo scopo del nostro lavoro è stato di valutare l'efficacia della vaccinazione e la persistenza di livelli protettivi di anti-HBs in una coorte di adolescenti dell'area fiorentina.

**Pazienti e metodi:** lo studio è stato condotto su 469 adolescenti (215 maschi e 264 femmine; età media 11,7 ± 0,4 anni) vaccinati nel 1992; un mese dopo il completamento del ciclo vaccinale (3 dosi a T0, T1 e T6) i soggetti sono stati testati per anti-HBs (Ausab EIA, Abbott). Una prima verifica dei titoli di anti-HBs è stata effettuata con lo stesso metodo nel 1999, mentre nel 2003 sono stati valutati sia l'anti-HBs che l'anti-HBc con metodica MEIA (IMx Ausab e Core, Abbott). I valori di anti-HBs sono espressi da entrambi i metodi in mUI/mL, con livelli protettivi ≥10.

**Risultati:** I valori di anti-HBs nel 1992 erano disponibili per 462 soggetti (98,5%); di questi, 351 (76%) sono stati controllati nel 1999 e 263 (56,9%) nel 2003. Nel 1992 tutti tranne uno presentavano livelli ≥10 di anti-HBs, l'80,2%

aveva livelli superiori a 1.000 mUI/mL e la media era di 4.880 mUI/mL. Dopo 7 anni, il 93,2% dei soggetti era ancora positivo per anti-HBs con titoli protettivi. Dopo 11 anni nessuno dei 262 soggetti controllati era positivo per anti-HBc, mentre il 91,3% era positivo per anti-HBs con valori >10 mUI/mL, e il 16,6% con livelli ≥1.000. Il decremento medio di anti-HBs dopo 11 anni era di 1,41 ± 0,47 log<sub>10</sub> 10 mUI/mL, ed era proporzionale ai livelli iniziali.

**Conclusioni:** in questa coorte di adolescenti la vaccinazione anti-HBV ha mostrato un'efficacia del 100%. Il calo dei livelli di anti-HBs è risultato correlato con il livello di picco rilevato un mese dopo la 3° dose di vaccino. Visti i complimenti epidemiologici indotti dalla vaccinazione obbligatoria è necessaria la valutazione degli studi sulla memoria immunitaria per proporre o meno una dose di richiamo nei soggetti con <20 mUI/mL di anti-HBs, che erano il 12% del totale.

## P172

### DETERMINAZIONE DI HCMV IN PAZIENTI TRAPIANTATI; COMPARAZIONE TRA COBAS CMV MONITOR ROCHE, "IN HOUSE" REAL-TIME PCR E ANTIGENEMIA PP65

Biasiolo M.A., Campion L., Kraniotaki E., Mengoli C., Cusinato R.

Dipartimento di Istologia, Microbiologia e Biotecnologie Mediche  
 UO Microbiologia e Virologia  
 Complesso Convenzionato  
 Azienda Ospedaliera-Università Padova

La diagnosi precoce delle infezioni da Cytomegalovirus (CMV) è uno dei principali obiettivi nel monitoraggio dei pazienti trapiantati. La ricerca quantitativa della viremia è uno dei parametri decisionali per l'inizio di terapia specifica ("preemptive therapy") e per il monitoraggio del successo terapeutico. Il metodo maggiormente impiegato è la ricerca dell'Ag pp65 nei leucociti polimorfonucleati del sangue periferico. Recentemente si sono affermati metodi molecolari per la determinazione della carica virale. In tale ambito presentiamo i risultati di uno studio comparativo tra antigenemia pp65 e due metodi molecolari quantitativi, Cobas Amplicor CMV Monitor (Roche) ed "in house" Real-Time PCR.

Sono stati esaminati 154 campioni provenienti da 127 pazienti sottoposti a trapianto di organo solido (cuore, fegato, rene, polmone) e midollo. La determinazione dell'Antigenemia è stata fatta su preparati di 200.000 leucociti, mentre la CMV-DNA è stato quantificato su preparazioni di PBLs, ed il risultato veniva espressa come N° di copie genomiche/10<sup>6</sup> cellule. L'estrazione degli acidi nucleici è stata eseguita manualmente, secondo protocollo, per Amplicor mentre per la Real-Time PCR si è ricorso ad un sistema automatizzato (stazione robotizzata multiprobe II HT exp. Perkin Elmer Lifescience). In RT-PCR la valutazione dell'idoneità dei campioni è stata confermata coamplificando con CMV-DNA un frammento genico della beta-globina.

Sono risultati positivi 27 campioni all'antigenemia, 38 con Cobas Amplicor e 54 con Real-Time PCR. Rispetto a pp65, Cobas Amplicor e Real-Time PCR hanno dimostrato valori di **concordanza del 92.9% e 82.5%, sensibilità 100% e 100%, specificità 91.3% e 78.7%, PPV 71.1% e 50% e NPV di 100% e 100%** rispettivamente.

I risultati ottenuti dimostrano la validità dei sistemi molecolari quantitativi indagati, soprattutto in termini di sensibilità, se paragonati a pp65. Il loro impiego nella routine diagnostica può risultare utile sia per una diagnosi precoce che nel