

mentre l'antigenemia risultava positiva per un basso numero di nuclei. Nell'episodio di rigetto **b** venivano riscontrati alti valori di antigenemia con basso numero di copie di CMV DNA nelle corrispondenti biopsie intestinali nei primi 6 giorni mentre nei 10 giorni successivi si osservava una inversione dei risultati: ad una antigenemia negativa corrispondevano valori elevati di virus nelle biopsie intestinali.

Una situazione virologica simile a quella associata al caso di rigetto **a** veniva osservata in due pazienti in assenza di manifestazione clinica.

Il fatto che gli stessi risultati virologici del caso di rigetto **a** si siano osservati anche in assenza di eventi clinici, suggerisce che la situazione virologica caratterizzata da: alto numero di copie di CMV DNA nelle biopsie e bassi o negativi valori di antigenemia non correla necessariamente con una situazione di rigetto diversamente da ciò che sembra avvenire quando vengano riscontrati alti valori di antigenemia come nel caso **b**.

In **conclusione**, ai fini del rigetto d'organo, i soli alti valori di CMV a livello intestinale appaiono meno predittivi rispetto ai soli alti valori di antigenemia essendo i primi, verosimilmente, conseguenti alla viremia da riattivazione di CMV a livello ematico.

## P199

### LA MICROSCOPIA ELETTRONICA QUALE UTILE SUPPORTO PER LA DIAGNOSI DI INFEZIONE DA VIRUS ENTERICI

Pinardi F., Arcangeletti M.C., De Conto F., Medici M.C., Valcavi P., Casula F., Ferraglia F., Motta F., Covan S., Calderaro A., Chezzi C., Dettori G.

Sezione di Microbiologia - Dipartimento di Patologia e Medicina di Laboratorio. Università degli Studi di Parma.  
Viale A. Gramsci, 14. 43100 Parma

#### Obiettivi

Questo studio si è prefisso di mettere in luce i vantaggi derivanti da un uso mirato della microscopia elettronica nell'ambito della diagnosi di infezione/malattia da virus, in particolare da virus enterici.

#### Materiali e Metodi

Le indagini virologiche condotte presso l'Unità di Virologia (Sezione di Microbiologia) di Parma, si riferiscono a 3490 campioni di feci, analizzati in un arco di tempo di circa 5 anni, dal gennaio 1999 al gennaio 2004.

L'indagine elettromicroscopica è stata impiegata quale metodo rapido direttamente sugli estratti fecali che, parallelamente, sono stati inoculati in colture cellulari per mettere in evidenza la presenza di agente/i citopatogeno/i.

Gli estratti cellulari positivi (324) sono stati osservati al microscopio elettronico per l'identificazione definitiva del virus in causa.

#### Risultati

La microscopia elettronica applicata direttamente agli estratti fecali si è dimostrata uno strumento vantaggioso nello svelare, entro poche ore dall'arrivo del campione, la presenza di agenti virali, in particolare quelli difficilmente coltivabili, quali rotavirus, come anche la contemporanea presenza di due virus appartenenti a famiglie generi diversi.

D'altra parte, l'uso congiunto dell'esame colturale e la successiva identificazione dell'agente citopatogeno mediante microscopia elettronica, ha permesso di rivelare la presenza di virus, quali picornavirus, che possono sfuggire all'indagine eseguita sull'estratto fecale sia per la loro scarsa definizione strutturale che per concentrazione insufficiente.

#### Considerazioni conclusive

Sebbene l'esame elettromicroscopico non rappresenti sempre il metodo di scelta per la diagnosi di infezione da virus, la rapidità di ottenimento dei risultati e la possibilità di visualizzare l'agente (gli agenti) virale/i in causa, lo rendono uno strumento indispensabile in tutte quelle situazioni in cui la tempestività e la sinergia di interventi da parte del microbiologo e del clinico possono essere determinanti nel prevenire la diffusione di un'epidemia, o quando altri metodi convenzionali si mostrino inefficaci nello svelare l'agente virale in causa.

## P200

### CONFRONTO FRA PCR SEMIQUANTITATIVA E REAL-TIME PCR PER LA DETERMINAZIONE DI CMV-DNA SU PLASMA.

Gregori G., Milia M.G., Faraoni S., Simoncelli B., Di Garbo A., Pistono P.G., Bossi V., Martorana M., Allegramente L., Piro F.

Laboratorio di Virologia,  
Ospedale di Malattie Infettive "Amedeo di Savoia", ASL 3, Torino.

Il CMV è causa di morbilità e mortalità nei soggetti HIV positivi.

La terapia HAART ha ridotto notevolmente l'incidenza della malattia da CMV e nei casi di malattia il decorso è più favorevole. Tuttavia nei soggetti in HAART, con conta di CD4+ >200, si segnalano casi di malattia da CMV nei primi mesi di terapia (CD4+ <200 prima della terapia HAART).

Il controllo della fase ematica dell'infezione, con i test dell'antigenemia pp65 e di PCR, permette la diagnosi e il monitoraggio della malattia da CMV.

La quantizzazione del DNA-CMV su plasma nei pazienti HIV positivi correla con la pp65, ha un buon valore predittivo positivo, ma è meno sensibile del DNA CMV da PBMC, che necessita la valutazione di un cut-off correlabile con il manifestarsi della patologia (Piro F. et al. 2000).

In questo studio si sono messi a confronto due diversi metodi d'indagine quantitativa di CMV DNA su plasma: la PCR all'Amplicor Monitor CMV (Roche Diagnostics), già in uso presso il nostro centro, con la Real time PCR (Amplimedical) di nuova introduzione, prendendo in considerazione parametri quali sensibilità e riproducibilità.

I risultati ottenuti sono stati anche comparati a test convenzionali quali la ricerca dell'antigene pp65 nei polimorfonucleati.

Si tratta di uno studio retrospettivo nel quale sono stati selezionati 40 campioni di plasma, di cui 23 risultati positivi all'Amplicor Monitor CMV, raccolti presso il nostro centro a partire da Gennaio fino a tutto Dicembre 2003.

La Real time PCR si è rivelata molto sensibile e ripetibile. I livelli viremici ottenuti (n° genomi/ml) con le due metodiche non sono comparabili; le viremie ottenute con la Real time PCR sono circa 9 volte maggiori rispetto a quelle ottenute con all'Amplicor Monitor CMV.

I risultati, in corso di elaborazione, saranno riportati in dettaglio nel poster.