

P214**TIPIZZAZIONE MOLECOLARE DI HPV MEDIANTE SEQUENZIAMENTO GENICO E CORRELAZIONE CON IL QUADRO CITOLOGICO IN DONNE SOTTOPOSTE A SCREENING PER LA PREVENZIONE DEL TUMORE CERVICALE**

Cappiello G¹, Longo R.¹, Abbate I.^{1,2}, Visca M.¹, Pontani G.¹, Manni N.¹, Capobianchi M.R.², Spanò A.¹.

¹Ospedale "S.Pertini" e ²INMI "L.Spallanzani", Roma

La classificazione degli HPV su base epidemiologica rispetto alle potenzialità oncogene è soggetta a continuo aggiornamento. Alcuni tipi di HPV non sono rilevabili con le tecniche di ibridazione comunemente usate.

Scopo dello studio è stato quello di eseguire, su donne sottoposte a screening per la prevenzione tumorale, la tipizzazione molecolare dell'HPV mediante sequenziamento e di correlare le positività con la citologia cervicale.

Sono state arruolate 130 donne (età mediana 35.5, range 17-62). I tamponi cervicali sono stati sottoposti ad amplificazione genica per la regione L1 di HPV. I campioni positivi sono stati tipizzati mediante sequenziamento diretto. E' stato eseguito parallelamente un PAP-test.

Il 28.4% delle donne risultava positivo all'HPV e di queste il 67.5% albergava genotipi ad alto rischio (16-18-31-33-39-52-56-53-58-59-MM9) vs il 24.3% con tipi a basso rischio (6-54-62-70-84). E' stata evidenziata una coinfezione (16+56); non è stato possibile tipizzare due campioni. I genotipi (MM9-62-84) non sarebbero stati rilevati con i più comuni kit commerciali che usano l'ibridazione. Il 72% delle donne con tipi ad alto rischio presentava lesioni di basso ed alto grado, mentre solo il 44% delle donne con tipi a basso rischio presentava lesioni, e solo di basso grado.

La prevalenza di HPV e le frequenze dei vari tipi da noi riscontrate è in linea con i dati di letteratura europea. Il sequenziamento evidenzia genotipi (MM9-62-84) non rilevabili con metodiche di ibridazione. Per quanto riguarda le possibili associazioni tra tipi di HPV e grado di alterazione citologica i tipi ad alto rischio si riscontravano sia nelle lesioni di basso grado sia in quelle di alto grado, mentre quelli a basso rischio sono sempre associati a lesioni di basso grado o citologia normale. Un follow-up viro-citologico potrà fornire indicazioni circa la probabilità e la velocità di progressione delle lesioni nelle persone infette dai diversi tipi di HPV.

P215**PIANO ORGANIZZATIVO DI CONTROLLO MICROBIOLOGICO IN UN LABORATORIO DI PATOLOGIA CLINICA ALLA LUCE DELL'APPLICAZIONE DELLA LEGGE 626/94.**

Cocco M.P.; Migliozi A.

Nell'ambito della gestione di un sistema di qualità in ambiente sanitario, notevole rilevanza riveste una corretta applicazione delle normative previste in materia di prevenzione (D.L. 626/94).

Obiettivo del seguente lavoro è stato quello di implementare un programma utile ad affrontare i principali problemi legati al Controllo Microbiologico Ambientale e, specie quando poi l'ambito di gestione sia rappresentato da un Laboratorio di

Analisi Microbiologiche, area notoriamente a rischio biologico particolarmente elevato.

Nel seguente lavoro il controllo microbiologico ambientale è eseguito a due livelli:

*CONTROLLO MICROBIOLOGICO DELLE SUPERFICI
*CONTROLLO MICROBIOLOGICO DELL'ARIA

Per le superfici di contatto si sono utilizzate le piastrine "contact-plate" di superficie pari a 24 cmq e per la raccolta dei campioni di aria si è impiegato il campionatore S.A.S.

Dopo che gli interventi di sanificazione previsti sono stati attuati sulle superfici e la ventilazione è stata regolata in modo che sono stati possibili 5 ricambi di aria/h, il controllo si è così presentato:

il numero di microrganismi espresso in UFC presenti in 1 mc di aria è stato:

MESOFILI	376
MUFFE	confluenti
COLIFORMI	0
STAFILOCOCCI	24

Il numero di microrganismi espresso in UFC presenti in 24 cmq di superficie è stato:

PARETI	
MESOFILI	10
MUFFE	0
COLIFORMI	0
STAFILOCOCCI	1

PAVIMENTO	
MESOFILI	confluenti
MUFFE	confluenti
COLIFORMI	3
STAFILOCOCCI	3

SUPERFICI DI LAVORO	
MESOFILI	10
MUFFE	3
COLIFORMI	2
STAFILOCOCCI	1

Conclusioni: l'analisi dei risultati dimostra che i limiti di accettabilità sono superati per quanto riguarda i MESOFILI TOTALI e le MUFFE sul pavimento e i livelli di MUFFE nell'aria del Laboratorio di Patologia Clinica sono eccessivi.

P216**CQ E QUALITA' DEI CONTROLLI: GRAMMATICA E PRATICA**

De Angeli A., Vagni A., Roveda A., Massardi R., Montanelli A.

Dipartimento di Patologia Clinica, Azienda
"Ospedale Maggiore di Crema" via Macallè 13, 26013 Crema

Obiettivo: Valutazione delle performance diagnostiche/analitiche di una procedura per la ricerca delle IgM antitoxoplasma e del ruolo dei dati presentati nella tabella riassuntiva della VEQ di sierologia della Regione Lombardia.

Materiali e Metodi: Presso il nostro laboratorio la ricerca delle IgM antitoxoplasma viene effettuata con una procedura a due step che prevede al primo step l'impiego di una metodica in completa automazione e ad elevata sensibilità (Toxo IgM, AXSYM System, Abbot) e l'esecuzione di un successivo step di conferma, a favore dei campioni risultati positivi, con procedura semiautomatica ad elevata specificità (Vidas Toxo IgM, Biomerieux).

Risultati: Dal gennaio al dicembre 2003 sono stati processati 5011 campioni: al primo step di indagine 46 sono risultati positivi, mentre al secondo step si sono riconfermati tali solo in numero di 12.

Conclusioni: Dalla tabella dei dati della VEQ regionale emerge che il metodo da noi utilizzato come screening e quello utilizzato come conferma hanno fornito dati concordi nel 100% de casi. La nostra esperienza invece ci offre informazioni diverse: i due metodi risultano esprimere performance analitiche non sovrapponibili. E'peraltro giusto che il metodo di screening sia più sensibile e meno specifico e quindi rilevi anche gli anticorpi aspecifici.

I 12 campioni positivi anche al II° step sono dei " veri positivi", il metodo di conferma è basato su una metodica a cattura che rileva solo ed esclusivamente le IgM rivolte verso il *Toxoplasma gondii*.

I 34 campioni risultati negativi al test di conferma, poiché hanno delle IgM di tipo aspecifico, non sono clinicamente rilevanti e pertanto è corretto considerarli "falsi positivi" sul piano analitico e negativi sul piano clinico, in quanto diversamente determinerebbero ingiustificato allarme nelle pazienti con alti costi umani (stress) e sanitari (controlli e terapie non necessarie).

I dati della VEQ svolgono un importante ruolo nel monitoraggio dell'accuratezza analitica, ma non possono rivestire il ruolo di un riferimento assoluto per l' adozione di procedure diagnostiche.

BIBLIOGRAFIA

1. Controlli di sierologia VEQ regione Lombardia

P217

SIEROLOGIA DELLE MALATTIE INFETTIVE: UTILIZZO DI UN ANALIZZATORE AUTOMATICO MULTIPARAMETRICO

Bonamore R.*, Garlaschi M.C.*, Ronchi M.A.*,
Ramponi C.*, De Michele G.*, Righi F.*, Scarazatti E.*

*U.O. di Microbiologia, Istituti Clinici di Perfezionamento, Milano

È stato messo a punto, di recente, dall'Azienda "Diesse Diagnostica Senese" un sistema automatizzato multiparametrico (CHORUS) che sfrutta contemporaneamente tecnologie diverse (metodo immunoenzimatico EIA e Fissazione del Complemento FC). Inoltre utilizza un dispositivo (strip) multi-cuvetta e mono-test dedicato con reattivi pronti all'uso, **Scopo.** L'obiettivo del nostro studio è stato quello di valutare se la strumentazione potesse essere utilizzata per piccole e medie routine, caratterizzate da richieste: **A-** rivolte contemporaneamente verso molti parametri infettivi (virus influenzali, parainfluenzali, EBV, virus pneumotropi, neurotropi, gastrici etc.) e **B-**con carattere d'urgenza, così da fornire una diagnosi sierologica nel più breve tempo possibile.

Materiali e Metodi. Abbiamo valutato 73 campioni di siero da altrettanti pazienti pediatrici con segni di infezione clinicamente ascrivibile ad Epstein Barr Virus e 42 campioni di siero da altrettanti pazienti pediatrici con richiesta di Virus respiratori (Influenza A e/o Influenza B e/o Adenovirus e/o Legionella). Abbiamo confrontato il nuovo sistema, con il metodo utilizzato routinariamente nel nostro laboratorio (Metodo EIA: Ditta Bouty, Fissazione del Complemento: Seramat Diesse Diagnostica Senese).

Risultati. La ricerca degli anticorpi anti VCA IgG e IgM nei 73 sieri valutati è risultata: in 64 casi concordante sia per IgG che per IgM (87.7%) e in 9 casi discordante (12.3%); di questi ultimi, 3 casi discordavano sia per IgG che per IgM, 5 casi discordavano solo per IgG e 1 caso solo per IgM. Per quanto riguarda la FC, dei 43 campioni esaminati 34 erano concordanti (30 negativi e 4 positivi) (79.1%), 3 casi discordanti (7.0%) e 6 casi dubbi (13.9%).

Considerazioni e Conclusioni. Tale strumentazione, sia per le caratteristiche intrinseche dello strumento (il dispositivo mono-test, pronto all'uso, contiene tutti i reagenti necessari per l'esecuzione del test) che per i buoni risultati ottenuti, anche se preliminari, ci permette di affermare che bene si inserisce nella gestione e nella organizzazione del laboratorio stesso, soprattutto per soddisfare le richieste urgenti multiparametriche di piccole serie.

P218

CONTROLLO DI PROCESSO NEL LAB. DI BIOLOGIA MOLECOLARE PER LO SCREENING DELLE UNITA' DI SANGUE

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

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

Introduzione: Lo scopo di questo studio è quello di valutare continuamente nel tempo il processo della tecnologia NAT (Nucleic Acid Testing) in uso nel nostro laboratorio. Lo screening NAT fu implementato nel nostro laboratorio a partire dal 4 Novembre 2001 con tecnologia HIV-1/HCV Chiron Procleix. Fino al 31 Dicembre 2003 furono testate 190000 donazioni provenienti da 50000 donatori per anno, di cui 7000 nuovi donatori.

Metodi: Regolarmente sono stati monitorati la forza lavoro, l'ambiente, i materiali e i metodi, secondo il diagramma di Isikawa. Ambiente: monitoraggio della sterilità/contaminazione di strumentazione, arredi, guanti a calzari degli operatori mediante tamponi sterili. I tamponi sono immersi in plasma negativo contenuto in provette di campionamento e quindi sottoposti a procedura analitica. Strumenti: Ogni 4 mesi viene seguito un CQC (Continuous Quality Control) mediante test gravimetrico sugli strumenti: Tecan pool, LeaderHC+, TCS, pipette, e un test colorimetrico per i Vortex. Materiali: Prima dell' uso in routine dei reagenti con numero di lotto diverso da quello impiegato vengono eseguiti test di prova con relative elaborazioni statistiche. Metodi: esecuzione di CQI, mediante l'introduzione in ogni corsa analitica del "run control" RC (STD ISS HCV-RNA 40 UI/ml) e adesione a programmi di VEQ.

Risultati: Non è stata rilevata alcuna contaminazione. Il CQC ha dimostrato un'elevata precisione (CV<1.5%) e buona accuratezza (1-3%) per tutta la strumentazione. Il CV dei valori giornalieri e mensili del RC sono <10% con una ds=0.7.

Conclusioni: Il protocollo impiegato nel nostro laboratorio è estremamente utile per tenere sotto controllo il processo in ogni step ed intervenire in tempo reale sugli errori casuali/sistemici.