

## G028

**INFEZIONE CRONICA DA VIRUS EPATITICI E DA HIV IN UNA POPOLAZIONE DI IMMIGRATI IN CAMPANIA**

Cuniato V.<sup>1,2</sup>, Bellitti F.<sup>1,2</sup>, D'Isanto R.<sup>1,2</sup>, Di Martino M.<sup>2</sup>, Nocera E.<sup>2</sup>, Bozzelli L.<sup>2</sup>, Rea M.<sup>2</sup>, Stornaiuolo G.<sup>3</sup>, Precone DF.<sup>3</sup>, Gaeta GB.<sup>3</sup>

Laboratorio di Microbiologia, Ospedale SM delle Grazie, Pozzuoli, Napoli<sup>1</sup>. Centro Medico-Sociale J. E. Masslo, Castelvolturno, Caserta<sup>2</sup>. Dipartimento di Malattie Infettive, Seconda Università di Napoli<sup>3</sup>

La valutazione dello stato di salute della popolazione immigrata è spesso ostacolata dalla mancanza di un sistema unico di sorveglianza nazionale e dalla presenza di una quota rilevante di immigrati clandestini, che usualmente non accedono al Servizio Sanitario.

Nel presente studio è stata rilevata la prevalenza di infezioni croniche da virus epatitici e da HIV in immigrati, prevalentemente clandestini, afferenti al Centro di Volontariato *Jerry Essan Masslo*. Per ogni paziente veniva compilata una scheda contenente informazioni demografiche e abitudini di vita e praticato un prelievo ematico per la determinazione di HBsAg, anti-HBs, anti-HBc, HBeAg, anti-HBe, anti-HDV, anti-HCV, anti-HIV.

Sono stati esaminati 544 soggetti: 260 femmine (200 prostitute e 60 ex-prostitute) e 284 maschi (210 disoccupati o con attività saltuarie, 68 manovali e 6 impiegati), provenienti prevalentemente dall'Africa sub-sahariana (81.6%); età mediana 28 anni (range 15-59).

HBsAg positività era presente nel 6.8% dei casi (nessuno era anti-HDV positivo); anticorpi anti-HCV erano rilevabili nel 3.4% dei soggetti esaminati; anti-HIV erano presenti nel 6%; tra questi ultimi, 5 presentavano coinfezione HIV/HBV, mentre nessuno era coinfecto con HCV. Nessuno dei soggetti portatori di HBsAg presentava positività per HBeAg; tra tutti i soggetti esaminati, circa 1/3 presentava immunità anti-HBs.

L'infezione cronica da HBV era più frequente nei maschi ( $p < 0.05$ ) mentre quella da HIV era più frequente nelle femmine e fortemente associata alla prostituzione. L'infezione da HCV era più frequente nei soggetti originari dell'Europa Orientale, mentre quelle da HBV e da HIV erano fortemente associate alla provenienza dall'Africa sub-sahariana. La percentuale di soggetti con anti-HCV e la loro distribuzione per età non è dissimile a quella riscontrata nella popolazione italiana. Elevata appare la percentuale di soggetti portatori di HBsAg; in associazione alla bassa copertura anticorpale riscontrata nella popolazione esaminata, il dato suggerisce la necessità di offrire una copertura vaccinale ai soggetti immigrati.

## G029

**DETERMINAZIONE DELLA FARMACO-RESISTENZA DI HIV-1 MEDIANTE ANALISI GENOTIPICA: CONFRONTO SULLA PREDITTIVITÀ DEI SAGGI INTERPRETATIVI VIROSEQ™ HIV-1 (APPLIED BIOSYSTEM), HIV-SEQ (STANFORD) E VIRTUAL PHENOTYPE (VIRCONET™).**

Di Nicuolo G.; Chirianni A.\*; Battisti S.; Starace M.; Sangiovanni V.\*; Glielmi G.\*

Servizio di Virologia, \*3a Divisione di Malattie Infettive, A. O. "D. Cotugno", Napoli

**Obiettivo:** I ceppi HIV-1 farmaco-resistenti possono essere identificati mediante analisi genotipica. La predizione di farmaco-resistenza sulla base del sequenziamento del gene *pol* di HIV, tuttavia, richiede l'uso di programmi interpretativi sviluppati da esperti. Nel presente studio vengono confrontati i risultati ottenuti con tre diversi saggi interpretativi dei dati genotipici.

**Materiali e metodi**

Sono stati inclusi nello studio 34 sequenze genotipiche di HIV-1 ottenute da campioni di plasma di pazienti sotto terapia antiretrovirale e in fallimento virologico con carica virale  $> 1000$  copie di HIV-RNA/mL. La sequenza del gene *pol* di HIV-1 è stata determinata con kit ViroSeq™ HIV-1 Genotyping System (Applied Biosystem) secondo le procedure raccomandate. L'elettroforesi in gel di poliacrilamide è stata effettuata con ABI Prism 377 DNA Sequencer. L'analisi delle sequenze è stata effettuata con DNA Sequencing Analysis software, version 3.4 e ViroSeq™ HIV-1 Genotyping System software, version 2.5, che fornisce anche un report interpretativo delle mutazioni rilevate che costituiscono evidenza genetica di farmaco-resistenza. Le sequenze ottenute sono state sottoposte anche ai saggi interpretativi di predittività di farmaco-resistenza Stanford HIV-SEQ (<http://hivdb.stanford.edu>) e Virtual Phenotype (VircoNET™). I tre saggi interpretativi sono stati confrontati sulla predittività di farmaco-resistenza per 15 farmaci: 6 NRTI (AZT, 3TC, DDI, DDC, D4T, ABC), 3 NNRTI (NVP, DLV, EFV) e 6 PI (IDV, RTV, NFV, SQV, APV, LPV). Sono stati considerati discordanti, per un determinato farmaco, i risultati forniti come predittivi di sensibilità da un saggio interpretativo e di resistenza da un altro.

**Risultati**

ViroSeq™ (VS), Stanford HIV-SEQ (SHS) e Virtual Phenotype (VP) hanno fornito rispettivamente 510, 510 e 470 interpretazioni. Risultati concordanti sono stati ottenuti nel confronto VS vs. SHS, VS vs. VP e SHS vs. VP, rispettivamente in 370/510 casi (72.54%), 291/470 (61.91%) e in 318/470 (67.65%). Risultati discordanti sono stati ottenuti in 26 casi (5.53%) nel confronto VS vs. VP, in 60 casi (12.76%) nel confronto SHS vs. VP e in nessun caso nel confronto VS vs. SHS. I risultati discordanti erano associati in tutti i casi con VP sensibile e furono ottenuti in modo significativamente più frequente con gli NRTI rispetto ai PI: 24/25 (96.0%) nel confronto VS vs. VP e 50/60 (83.33%) nel confronto SHS vs. VP. Nessun risultato discordante nel confronto fra i tre saggi interpretativi fu ottenuto per gli NNRTI. Dei 24 casi discordanti per gli NRTI osservati nel confronto VS vs. VP, 14 (58.33%) erano per DDC. L'analisi del pattern di mutazioni in questi soggetti mostrava la presenza della mutazione al codon 184 in 11/14 casi (78.57%). Dei 50 casi discordanti per gli NRTI osservati nel confronto SHS vs. VP, 12 (24.0%) erano per DDI, 12 (24.0%) per DDC, 11 (22.0%) per

D4T e 11 (22.0%) per ABA. L'analisi del pattern di mutazioni in questi soggetti non mostrava una mutazione chiave con un significativo valore predittivo di risultato discordante.

#### Conclusioni

In questo studio, il confronto fra tre saggi interpretativi di predittività di farmaco-resistenza di ceppi HIV-1 ha mostrato un alto grado di concordanza, specialmente per gli NNRTI e i PI. La predittività di resistenza a certi NRTI per una determinata sequenza di HIV-1 può essere contraddittoria e richiede ulteriori investigazioni.

### G030

#### ANTI-HCV. CONFRONTO TRA SISTEMI IN AUTOMAZIONE. ANTI-HCV-ARCHITECT (ABBOTT) VERSO ANTI-HCV-VITROS (ORTHO).

Marinelli M., Tomassini L., Soldini L., Dorigatti F.

*Diagnostica e Ricerca S. Raffaele, Via Stamina d'Ancona 20, Milano.*

**Obiettivo** In questi ultimi anni diverse sono state le proposte da parte delle società diagnostiche di sistemi sempre più ricercati e completi per la rilevazione degli anticorpi contro il virus dell'epatite C. Nel nostro Istituto abbiamo avuto l'opportunità di confrontare una recente metodica completamente in automazione (Anti-HCV-Architect -ABBOTT-) con quella da noi in uso (Anti-HCV-Vitros-ORTHO).

**Metodologia** Lo studio è stato effettuato mediante: a) comparazione di 681 campioni non selezionati. I campioni reattivi a basso livello e/o discordanti sono stati analizzati ulteriormente con il test Chiron RIBA 3.0; b) analisi di 46 campioni con positività nota al test RIBA e 10 al test HCV-RNA; c) misurazione del pannello commerciale PHV 105 BBI costituito da 15 campioni a tipologia nota; d) analisi di 5 repliche per 5 giorni dei controlli positivo e negativo Anti-HCV-Abbott e di 3 campioni positivi a diversa concentrazione di analita.

**Risultati** Dei 737 campioni totali analizzati 644 sono risultati non reattivi, 88 reattivi con entrambi i metodi e 5 discordanti (test Chi Quadro non significativo, concordanza tra metodi 99.3%, sensibilità e specificità di Anti-HCV-Architect verso Vitros 98.9% e 99.4% rispettivamente). Dei 5 campioni discordanti, tutti con valore S/CO inferiore a 2, al test di conferma RIBA tre sono risultati indeterminati e due negativi; ciò a significare che il campione vero positivo, almeno in questo studio, non ha presentato problemi di individuazione per i due metodi. A ulteriore conferma vi sono i 46 e i 10 campioni positivi, rispettivamente al test RIBA ed HCV-RNA, che sono risultati reattivi con valori medi di S/CO di 12.7 e 13.0 per Anti-HCV-Architect e di 30.4 e 30.8 per Vitros. La riproducibilità dei risultati Anti-HCV-Architect è stata ottima con CV inferiori al 5%. I 15 campioni del pannello PHV-105 BBI sono stati classificati correttamente e con buona ripetibilità da entrambi i metodi (CV medio per Anti-HCV-Architect 3.5% e per Anti-HCV-Vitros 5%).

**Conclusioni** In conclusione possiamo affermare che il test Anti-HCV-Architect ha evidenziato caratteristiche analitiche del tutto confrontabili con il test Anti-HCV-Vitros. Tuttavia, se consideriamo che il sistema Architect (Abbott) è costituito da uno strumento modulare che può mettere insieme fino a quattro analizzatori ed ha una cadenza analitica di circa 180-200 test/ora per analizzatore (Vitros 60-70 test/ora) possiamo affermare che Architect (Abbott) rispetto a Vitros (Ortho) trova il suo migliore utilizzo in quei laboratori medio-grandi il cui punto di forza è, oltre alla qualità analitica, l'elevata cadenza unita a brevi tempi di risposta.

### G031

#### ANTI-HBSAG-ARCHITECT VERSO ANTI-HBSAG-AXSYM. VARIABILITA' ANALITICA. QUALI LE CAUSE.

Marinelli M., Tomassini L., Soldini L., Dorigatti F.

*Diagnostica e Ricerca S. Raffaele, Via Stamina d'Ancona 20, Milano.*

**Obiettivo** Comparare il dosaggio Anti-HBsAg-Architect (Abbott) con quello in uso in routine Anti-HBsAg-AxSYM (Abbott) ed indagare l'eventuale variabilità analitica.

**Metodologia** Lo studio è stato effettuato mediante: a) valutazione della riproducibilità dei risultati mediante analisi di tre controlli Anti-HBsAg (Abbott) e di tre campioni a diversi livelli di analita; b) analisi della linearità di risposta per entrambi gli analizzatori sia con procedura undiluted sia con quella in automazione (1:25 per Anti-HBsAg-AxSYM e 1:15 per Anti-HBsAg-Architect); c) comparazione di 103 soggetti, 59 maschi e 44 femmine, riuniti in tre gruppi: GR.1-immuni a seguito di vaccinazione; GR.2-immuni in forma naturale; GR.3-non immuni.

**Risultati** La riproducibilità dei risultati per Anti-HBsAg-Architect è stata ottima con CV inferiori al 5%. Altrettanto valida si è rivelata la risposta al test di linearità sia con la procedura undiluted ( $r=0.998$ , slope 0.95) che in diluizione automatica ( $r=0.998$ , slope 1.01) mentre per Anti-HBsAg-AxSYM si è ottenuto  $r=0.972$ , slope 0.87 e  $r=0.994$ , slope 1.17 rispettivamente. La comparazione tra i metodi ha evidenziato una pendenza della retta di regressione di 1.0 con un significativo coefficiente di regressione lineare (0.892). Lo studio della distribuzione delle differenze mostra un'ampia dispersione dei dati con una sovrastima media di circa 13% da parte di Anti-HBsAg-Architect. Tuttavia, se si confrontano i dati di GR.1 con GR.2, si nota che la variabilità maggiore è tra i soggetti immuni per acquisizione naturale e non tra gli immuni a seguito di vaccinazione; l'analisi delle differenze, infatti, rileva un valore medio di 0.1% per il GR.1 e di -53% per GR.2.

**Conclusioni** L'analisi dei dati ottenuti in questo studio, anche se su un campione non particolarmente numeroso, ci porta a sostenere che la variabilità misurata è, quasi sicuramente, dovuta all'eterogeneità tra individui nella risposta anticorpale ai diversi determinanti antigenici dell'HBsAg piuttosto che ad un problema di standardizzazione fra i metodi; infatti, le differenze tra metodi sono significative in chi ha acquisito e risolto in forma naturale la malattia rispetto a coloro che hanno acquisito l'immunità con un vaccino da ingegneria genetica sicuramente "antigenicamente" più omogeneo. In conclusione possiamo affermare che il test Anti-HBsAg Architect ha evidenziato caratteristiche analitiche del tutto confrontabili con il test Anti-HBsAg-AxSYM.