

G037**LA RICERCA DI ANTICORPI ANTI-HCV CON DUE SISTEMI AUTOMATIZZATI**Piantino P., Sardella M., Martinasso G¹., Galli C.²

U.O.A. Microbiologia e ¹U.O.A. Chimica Clinica, Azienda Ospedaliera S. Giovanni Battista, Corso Bramante 88, Torino;
²Medical Marketing, Abbott Divisione Diagnostici, via Mar della Cina 262, Roma

Scopo dello studio: confronto tra i test anti-HCV sui sistemi automatizzati Abbott Architect e Prism

Materiali e metodi: analisi in doppio del pannello anti-HCV a basso livello BBI PHV-105; valutazione su campioni consecutivi non selezionati della routine diagnostica e analisi dei reattivi con test supplementare (Inno-LIA HCV 3.0).

Risultati: i 15 campioni del pannello hanno fornito risultati in linea con l'atteso (reattività sui campioni positivi e indeterminati) con buona riproducibilità. Dei 749 campioni di routine, 742 (99,1%) hanno fornito un risultato concordante con i due sistemi (488 negativi e 254 reattivi). Nessuno dei sette discordanti (4 reattivi solo con Architect, 3 solo con Prism) ha evidenziato reattività al test supplementare. Dei 254 positivi concordanti 249 sono stati analizzati con Inno-LIA (11 negativi, 4 monoreattivi, 234 positivi). Il valore predittivo positivo era 90,7% con Architect e 91,0% con Prism. La distribuzione dei risultati negativi era analoga con i due sistemi (Architect S/CO 0,15±0,13, mediana 0,12; Prism S/CO 0,12±0,09, mediana 0,09). Il 99° percentile dei risultati negativi era 0,79 S/CO con Architect (praticamente coincidente con la zona grigia proposta di 0,80 S/CO) e di 0,48 con Prism. Il segnale Architect sui campioni reattivi correlava con la positività Inno-LIA: le percentuali di conferma erano 0% per S/CO <2 (9 campioni), 55% per S/CO 2-4,99 (20 campioni), 96,4% per S/CO 5-9,99 (28 campioni) e 100% per S/CO ≥10 (199 campioni).

Conclusioni: i test anti-HCV sui sistemi Architect e Prism hanno mostrato una sostanziale concordanza; tutti i campioni discordanti o non confermati al test supplementare presentavano una reattività a basso livello. In linea con quanto recentemente suggerito (MMWR 7-2-03), appare sostanzialmente inutile eseguire un test supplementare se la reattività è superiore a 5 S/CO (percentuale di "conferma" del 99,6%). La cadenza analitica di Architect (200 risultati/ora) è compatibile con una routine elevata come la nostra.

G038**DETERMINAZIONE DI ANTIGENE P24 E ANTICORPI ANTI-HIV 1/2 CON IL TEST AXSYM HIV COMBO**

Grisendi L., Ferrari C., Galli C. I

Laboratorio di Microbiologia,
 Ospedale S. Maria Nuova, Reggio Emilia;
¹Medical Marketing, Abbott Divisione Diagnostici,
 via Mar della Cina 262, Roma

Scopo dello studio: valutare le prestazioni analitiche in routine del nuovo test AxSYM HIV1/2 Combo (Abbott) per la determinazione combinata di antigene p24 e anticorpi anti-HIV1/2 in confronto con il test per soli anticorpi AxSYM HIV1/2gO.

Materiali e metodi: abbiamo analizzato in parallelo con i due test 550 campioni non selezionati della routine e 30 campioni

di sieroteca con risultato già noto con il test AxSYM gO. I campioni reattivi sono stati caratterizzati con Western blot.

Risultati: la concordanza tra i due test sui campioni di routine è stata del 99,45% (547/550; 540 negativi concordanti e 7 reattivi concordanti). I tre discordanti (2 reattivi gO e 1 reattivo Combo) erano negativi al WB, come pure uno dei positivi concordanti; la specificità dei due test era quindi 99,63% per Combo (l.c. 95% 98,7-100) e 99,45% per gO (l.c. 95% 98,4-99,9). Un campione in fase di sieroconversione (gp160 al WB) è stato identificato come reattivo da entrambi i test. Il test Combo è risultato reattivo sui 26 campioni positivi di sieroteca e ha dato esito negativo su 2 dei 4 falsi positivi. La distribuzione dei risultati negativi (S/CO) era analoga con i due sistemi (Combo: media 0,35±0,06, mediana 0,35, 11,7 d.s. dal cutoff; gO: media 0,37±0,06, mediana 0,36, 10,9 d.s. dal cutoff). Il 99° percentile dei risultati negativi era 0,63 S/CO con il Combo e 0,59 S/CO con il gO. I CV del Combo su 65 repliche dei controlli positivi (3 livelli) e negativo erano rispettivamente 11,16%, 11,47%, 6,83% e 7,36%.

Conclusioni: i due test hanno mostrato un'equivalenza quasi assoluta di risultati nella nostra routine diagnostica. Il test AxSYM Combo, del quale è già stata dimostrata la superiore sensibilità nelle prime fasi di infezione, si è rivelato leggermente più specifico e assai riproducibile, dimostrando quindi le caratteristiche analitiche essenziali per un impiego in routine.

G039**DONATORI HCV E HIV POSITIVI. INDAGINI SIEROLOGICHE SUPPLEMENTARI E RICERCA DEL GENOMA VIRALE A CONFRONTO.**

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

Dip. G. Medicina Trasfusionale A.O. O.I.R.M. S. Anna Torino.

Scopo: Nel nostro Centro Trasfusionale (90000 donazioni/anno) è in uso dal 1998 il sistema ABBOTT PRISM Chlia per lo screening di HBsAg, HIV-Ab, HCV-Ab e dal 4/11/2001 la tecnologia Chiron TMA Procleix per la ricerca in minipool di HIV-1/HCV-RNA, in accordo con la DGR 28-3449 (9.07.01) della Regione Piemonte e in ottemperanza alla Circ. Min. N°17 del 30.10.2000 e la Circ. Min. N°14 del 12.12.2001. Dopo circa 18 mesi dall'introduzione in routine del test NAT, abbiamo analizzato l'espressione delle bande antigeniche dei campioni positivi al test supplementare RIBA Immunoblot Assay-ORTHO.

Metodi: Dal 4/11/2001 oltre 120000 unità di sangue sono state testate per lo screening anticorpale (ABBOTT PRISM) e la ricerca del genoma virale (Procleix HIV-1/HCV assay CHIRON) di HCV e di HIV-1. Ogni campione positivo (R>1) o border-line (G.Z. 20%) in PRISM viene ritestato, in duplicato sia in PRISM sia in AXSYM -ABBOTT- e, confermato mediante RIBA. Il test NAT viene eseguito su minipool da 8 campioni mediante TMA Multiplex Assay per la rivelazione contemporanea di HIV-1 e HCV-RNA. I campioni NAT positivi (NAT+), testati in singolo con lo stesso protocollo, sono analizzati separatamente per HCV o HIV mediante Discriminatory-test (Procleix HIV-1; Procleix HCV). Sui campioni ripetutamente reattivi (RR) per HCV-Ab e HIV-Ab in PRISM sono state condotte valutazioni comparative tra i 2 protocolli RIBA/TMA. Abbiamo analizzato: il n° di campioni RIBA POS/IND, il pattern delle bande antigeniche ed il relativo "score" in relazione alla distribuzione dei campioni con/senza viremia e al valore della ALT.

Risultati: su 120000 unità testate, 80 sono risultate RR per HCV-Ab e 57 per HIV1/2-Ab. Al test HCV-RIBA 42 donatori/80 sono stati confermati positivi e 30 erano anche viremici (71%), 20/80 hanno dato esito indeterminato (15% NAT+), 18/80 negativi RIBA/NAT. 24 campioni RIBA/NAT positivi con ALT elevate presentavano uno score di 4+ nel 100% dei casi per la c33 e la c22, nell'87% per la c100 e solo nel 50% dei casi per l'NS5. I campioni RIBA indeterminati/NAT positivi esprimono solo Ab anti-c33 o -c22, con score 4+/3+. Con un pattern di espressione sovrapponibile i campioni NAT negativi presentano score bassi (1+,2+). Dei 57 HIV-Ab RR solo 4 (7%) sono risultati RIBA positivi con viremia in atto e 1 RIBA indeterminato (17%).

Conclusioni: La percentuale di donatori confermati HCV-Ab positivi aviremici è pari al 30%. Un risultato indeterminato al RIBA correla con la presenza di HCV-RNA nel 15% dei casi. I campioni NAT+ con ALT elevate evidenziano un pattern di espressione di tutte le bande antigeniche con score elevati (3+,4+).

PIPETTE	75 microl		25 microl		100 microl		200 microl		250 microl	
	1x	10x	1x	10x	1x	10x	1x	10x	1x	10x
N	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
media	74,47	748	24,3	247	98,75	199,05	248,1			
Min	73	739	24	241	97	196	247			
Max	79	759	26	255	100	209	249			
v.a.	75	750	25	250	100	200	250			
Acc.	-0,7%	-0,2%	-1,2%	-1,2%	-1,2%	-0,5%	-0,7%			
SD	1,46	3,8	0,57	2,8	0,71	2,45	0,44			
CV %	1,97%	0,51%	2,3%	1,15%	0,73%	1,24%	0,18%			

Conclusioni: Tutti gli strumenti mostrano nel tempo una buona precisione e accuratezza. Per il Tecan POOL (scostamento dal valore atteso -1,8%) si rende necessario un sistema di controllo gravimetrico e monitoraggio continuo gestito da un software dedicato. L'introduzione del programma CQC ci ha permesso di controllare a breve termine le performance del sistema e richiedere interventi mirati.

G040

VALUTAZIONE CONTINUA DELLA QUALITA' DEL TEST NAT PROCLEIX HIV-1/HCV.

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

Dip. G Medicina Trasfusionale A.O. OIRM S.Anna Torino.

Scopo: Il test NAT è in routine nel nostro Centro Trasfusionale dal 4/11/2001 (DGR 28-3449) con tecnologia singolo/minipool Chiron TMA Procleix Multiplex HIV-1/HCV Assay. Scopo di questo studio è individuare una procedura di controllo nel tempo di accuratezza e performance del metodo.

Metodi: Il nostro Centro raccoglie circa 90000 donazioni all'anno con un carico di lavoro giornaliero di 300-1000 unità. La tecnologia è validata in minipool da 8 campioni, che vengono allestiti da 2 TECAN Genesis RSP 150. Campioni in singolo e in minipool vengono testati su 2-3 run/giorno e distribuiti dal terzo TECAN Genesis secondo procedura Procleix HIV-1/HCV ASSAY (Chiron). Il sistema TMA-Procleix consiste in: 1 TCS (Target Capture System), 3 bagno-maria, 2 vortex, 1 Luminometro, 2 pipette Eppendorf. Con cadenza mensile abbiamo attuato un programma di Controllo Continuo della Qualità (CQC) per valutare la riproducibilità analitico-strumentale del test, che prevede sia misurazioni gravimetriche pre/post dispensazione di acqua distillata al posto di reagenti/plasma su TECAN-POOLING: 10 micropiastre e 120 provette pool; TECAN-TMA: 20 TTU (Ten Tube Unit); LUMINOMETRO: 20 TTU; TCS: 20 TTU; PIPETTE: 20 tubi con diversi volumi (25, 75, 100, 200, 250 microL); sia rilevamento della temperatura su sei punti: BAGNO-MARIA.

Risultati:

	TECAN-POOL	TECAN TMA	TCS	Luminom.		
	Micro-piastre	Tubi-pool	TTU	TTU disp. TTU asp.		
N	10	120	20	20	20	20
media	228,3 microL	1,57 ml	9,092 ml	10,1167	0,0013	3,902
Min	210	1,48	9,028	9,65	0,000	3,890
Max	232,2	1,62	9,114	10,187	0,009	3,978
v.a.	210	1,600	9,00	10,00	0,000	3,6-4,5
Acc.	+8,7%	-1,8%	+1%	+1%	+0,1%	(-3%)
SD	3	0,018	0,0219	0,120	0,002	0,018
CV %	1,56%	1,48%	0,2%	1,19%	/	0,47%

G041

DIAGNOSI DI LABORATORIO DELL'INFEZIONE DA CITOMEGALOVIRUS IN PAZIENTI SOTTOPOSTI A TRAPIANTO DI MIDOLLO OSSEO: DUE METODICHE A CONFRONTO.

Goffi M.B, Farris A.G., Satta G.
e.mail: fantoniogio@tiscalinet.it

Laboratorio Analisi Ospedale "R. Binaghi",
Via Is Guadazzonis 14, 09100 Cagliari

Il Citomegalovirus è un virus appartenente alla famiglia Herpesviridae, sottofamiglia Beta-Herpesvirinae, caratterizzato da un lungo ciclo replicativo ed è importante causa di mortalità nei soggetti immunodepressi.

L'infezione da Citomegalovirus o la riattivazione del virus stesso rappresenta quindi il rischio maggiore per il Paziente trapiantato che viene monitorato con indagini di Laboratorio che garantiscano una buona sensibilità.

Da circa quattro anni presso il nostro Laboratorio viene eseguita la determinazione del CMV-DNA su plasma dei Pazienti che hanno subito un trapianto di midollo osseo con metodica di amplificazione in PCR (CMV-Monitor - Roche diagnostics) ottenendo dei buoni risultati che, come già esposto in precedenti lavori, sono stati spesso d'aiuto al clinico nella scelta della terapia antivirale. Da circa un anno abbiamo affiancato a questo tipo di test anche la determinazione qualitativa dell'RNA messaggero per la proteina pp 67 del Citomegalovirus con metodica in amplificazione (Nuclisens CMV - Organon Tecnica) test che secondo i dati della letteratura mostra delle ottime performances nei confronti dell'antigenemia pp65 in particolare per ciò che riguarda la sensibilità (CMV Nuclisens: sensibilità 97%; antigenemia pp65: sensibilità 63 %).

Lo scopo del nostro lavoro è stato quello di valutare le caratteristiche del test a confronto con la metodica in uso presso il nostro Laboratorio (CMV-DNA Roche) con l'intento di stabilire se Nuclisens potesse essere di più valido aiuto nella diagnosi precoce dell'infezione da CMV.

Sono state eseguite 176 determinazioni contemporanee di CMV-DNA e mRNA pp67 su pazienti sottoposti a trapianto di midollo osseo di cui 151 sono risultati negativi con entrambe le metodiche, 11 campioni sono risultati concordemente positivi, 13 positivi per CMV-DNA e negativi per pp67, in un solo caso si è avuta la positività per pp67 e la negatività per CMV-DNA con una assorbanza abbastanza elevata. (Tab. 1) Nella maggior parte dei 13 casi positivi per il CMV-DNA e