
G050

**EMERGENZA SARS - L'ESPERIENZA DEL
LABORATORIO DI VIROLOGIA DELL'OSPEDALE
AMEDEO DI SAVOIA DI TORINO.**

Piro F.; Pistono P.G.; Milia M.G.; Resente P.; Granito M.T.;
Russo P.; Allegramente L.; Di Garbo A.

Laboratorio di Virologia
Ospedale Amedeo di Savoia di Torino (ASL 3)

La comparsa a Febbraio in Cina della Sindrome Acuta Respiratoria Severa (SARS) e la sua rapida diffusione mondiale ha costretto le strutture sanitarie preposte, ad approntare rapidamente, protocolli diagnostici adeguati a discriminare tale patologia da altre forme comuni di polmonite atipica. Tali procedure potranno subire modifiche nel tempo ma costituiscono fin d'ora un valido approccio adattabile ad altri tipi di emergenza.

I protocolli, desunti dalle indicazioni fornite dal WHO tramite Internet, prevedevano per ciascun paziente la raccolta di n.2+2 tamponi e n.2 lavaggi nasofaringei bilaterali, n.2 tamponi orofaringei, n.2 provette di sangue intero e con EDTA. Si redigeva una scheda paziente.

Successivamente erano eventualmente previsti espettorato, lavaggio broncoalveolare (BAL), aspirato tracheale o liquido pleurico, urine e feci.

I materiali in laboratorio venivano manipolati in camera sterile a sicurezza P3. Su tutti, eccetto il sangue, erano praticate colture a 37° con cellule Hep2, Vero, BGM, MRC, a 34° con cellule Vero, MRC, DOG per 21 giorni. Contemporaneamente si eseguiva (sangue incluso), una nested-PCR per *SARS-coronavirus*, *Influenza A/B* ed Enterovirus. Su siero erano ricercati Anticorpi Fissanti il Complemento per *Parainfluenza 1-2-3*, *Influenza A/B*, *Coxsackievirus A/B* ed *Echovirus*, IgG ed IgM anti RSV, Adenovirus, *Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae* e *Legionella pneumophila*. Ove possibile si eseguiva un prelievo tardivo. Ciascun materiale era stoccato per l'invio a centri di riferimento.

Risultati: I 6 pazienti esaminati, di età tra 18 e 56 anni, erano negativi a colture e ricerca dell'RNA di *SARS-Coronavirus*; in un paziente si isolava un *Coxsackievirus B* da lavaggio nasale e tampone faringeo, quest'ultimo campione era positivo anche alla PCR per Enterovirus, erano presenti gli anticorpi specifici fissanti il complemento; in un altro paziente veniva isolato un *Adenovirus* dai materiali respiratori; in due pazienti si faceva diagnosi sierologica rispettivamente di Infezione da *Chlamydia pneumoniae* e *Mycoplasma pneumoniae*. Due pazienti sono al momento privi di diagnosi eziologica.

G051

**IL TRAPIANTO DI MIDOLLO OSSEO
E L'INFEZIONE DA CMV:
RISULTATI DI UN MONITORAGGIO
IN ETA' PEDIATRICA**

Rabagliati A.M., Finello F., Pessina R., Cappelli B*., Erba D*.,
Ricci R.

Laboratorio Centrale Analisi, IRCCS G. Gaslini,
L.go G. Gaslini 5, 16147 Genova.

*Dipartimento di Ematologia e Oncologia Pediatrica, IRCCS
G. Gaslini, Genova

Scopo del lavoro. La messa a punto del test dell'antigenemia per citomegalovirus (Ag-CMV) ha creato una svolta importante nella storia dei trapianti poiché ha reso possibile il monitoraggio dell'infezione-malattia citomegalica. Dopo diversi anni di monitoraggio di soggetti in età pediatrica sottoposti a trapianto di midollo, si è voluto valutare in quale epoca post trapianto si è avuta la prima Ag-CMV positiva e verificare se c'erano differenze in funzione del grado di correlazione tra Donatore (D) e Ricevente (R).

Metodologia. La popolazione presa in considerazione è costituita da 69 soggetti di età compresa tra 5 mesi e 20 anni che durante i 5 anni di osservazione (1.7.1997-30.6.2002) sono stati sottoposti a trapianto di midollo osseo (complessivamente n° 71 trapianti) di tipo allogenico, sia correlato (Allo-C n° 26) che non correlato (Allo-NC n°45), e monitorati per almeno tre mesi. Complessivamente sono stati analizzati i risultati di 2423 Ag-CMV.

Risultati. Per ogni trapianto sono state eseguite, mediamente, n° 5,5 antigenemie/mese con percentuali di poco più alte per gli Allo-NC rispetto agli Allo-C e nel 1° trimestre rispetto al 2° trimestre.

Su tutto il gruppo di trapianti seguiti, il 56,3% (40/71) ha presentato almeno una Ag-CMV positiva, ma se si escludono quelli con sierologia pre trapianto verso CMV negativa di R e D che non hanno mai presentato un'antigenemia positiva, la percentuale sale al 72,7% (n°40/55) più precisamente al 61,1% per gli Allo-C e al 78,4% per gli Allo-NC.

Per 39 dei 40 trapianti (97,5%) che hanno presentato almeno un'antigenemia positiva, la prima positività si è avuta nel 1° trimestre post trapianto (+11gg. / +60gg.) e solo 1 su 40 (2,5%) si è avuta al 9° mese a +244gg. Il numero medio di elementi positivi su 200.000 è stato 3,1 per Allo-C e 8,1 per Allo-NC.

Conclusioni. Dai dati analizzati è emerso che, per i trapianti allogenici in pediatria, il periodo più critico per la prima Ag-CMV positiva è anticipato (media +33gg.) rispetto a quanto riportato in letteratura e i trapianti Allo-NC si confermano quelli più a rischio.

G052

**INFEZIONE DA HIV-2 IN SOGGETTI
EXTRACOMUNITARI DI ORIGINE SENEGALESE**

Rizzo A., Faneschi M.L., Sticchi Damiani A., Pizzolante M.,
Congedo P.

Laboratorio di Microbiologia *Unità Operativa di Malattie
infettive A.S.L. LE/1 - Presidio Ospedaliero "Vito Fazzi",
Piazza F. Muratore, 73100 Lecce

Obiettivi della ricerca: HIV-2 è un retrovirus che, insieme a HIV-1, appartiene alla sottofamiglia dei Lentivirinae; è particolarmente simile al SIV, il virus della scimmia Macacus.

L'infezione è largamente diffusa in Africa Occidentale, si trasmette per via sessuale e dalla madre al feto. Al pari di HIV-1 provoca nell'uomo una sindrome da immunodeficienza, ma con decorso più lungo e benigno.

Descriviamo due casi clinici in soggetti extracomunitari senegalesi ricoverati nel nostro nosocomio nel corso dell'anno 2002 per ascessi cutanei suppurati e fistolizzati nei quali l'esecuzione del test HIV 1/2 COMBI-test IV generazione - ditta Roche, risultava nettamente positivo (assorbanza >1000). Si fa presente che i casi di HIV-2 in Italia sono veramente rari e legati esclusivamente a pazienti provenienti da paesi in cui tale virus è endemico. Spesso quindi solo l'utilizzo di un test di screening che saggia contemporaneamente gli anticorpi contro entrambi i virus può essere un utilissimo

campanello di allarme di una situazione di infezione. La sintomatologia clinica d'altronde, estremamente subdola e sfumata, non è tale da fare insorgere un sospetto diagnostico di AIDS.

Metodologia usata: La positività del test di screening per HIV 1/2 ha richiesto, come sempre, l'esecuzione del test di conferma con Western-blot HIV-1 (ditta Biorad). Si osservano in entrambi i casi la presenza delle seguenti bande

POL p34

p68

GAG p24

Risultato INDETERMINATO ma altamente suggestivo per infezione da HIV-2

Ricerca di carica virale eseguita con metodica AMPLICOR HIV-RNA monitor - ditta roche - inferiore a 400 copie /ml. Linfociti CD4 in percentuale superiori al 30% in un caso al 50% nell'altro.

Risultati e conclusioni: La provenienza geografica dei soggetti, la sintomatologia clinica e i dati di laboratorio hanno fatto sospettare un'infezione da HIV-2, confermata successivamente con Western-blot HIV/2 - ditta BIORAD.

G053

INFEZIONI DA *C. TRACHOMATIS*, HPV E *CANDIDA SPP*: ESPERIENZA NEL BIENNIO 2001-2002 IN UN GRUPPO DI DONNE IN ETÀ FERTILE

Schiavone M.L., Ursitti A., De Sandro M.V., Pontani G., Tuccinardi C., Pietrobattista P.*, Del Vecchio A.M.*, Spanò A.

Servizio di Microbiologia-Ospedale "S. Pertini"

* Consultorio di Tor Cervara, ASL RM/B

Obiettivo: Obiettivo di questo lavoro è stato quello di valutare la prevalenza di alcune infezioni uro-genitali in un gruppo di donne, sessualmente attive ed in età fertile, e fornire informazioni quantitative in grado di migliorare la prevenzione primaria e le procedure di screening sulle malattie sessualmente trasmesse. In particolare, sono stati considerati tre agenti responsabili di MST (*C. trachomatis*, HPV e *Candida spp.*), utilizzando come strumenti diagnostici di laboratorio test biomolecolari, che hanno consentito di rilevare l'infezione in mancanza sia di segni e sintomi specifici, sia di alterazioni citomorfologiche.

Materiali e metodi: Lo studio, svolto dal 26.03.2001 al 17.12.2002, è stato condotto tra il Consultorio di Tor Cervara ed il Servizio di Microbiologia dell'Ospedale S. Pertini di Roma, con la collaborazione di 295 donne di età compresa tra i 18 ed i 45 anni. Il protocollo ha previsto una visita di arruolamento durante la quale le donne, dopo aver fornito il loro consenso a partecipare allo studio, sono state sottoposte alla compilazione di un questionario specifico per la raccolta dell'anamnesi, ad una visita ginecologica ed alla raccolta di campioni biologici. I campioni prelevati sono stati sottoposti ad indagini molecolari, per quanto riguarda *C. trachomatis* ed HPV (metodica C.t. Abbott LCR, metodica Digene CT-ID Test, metodica Digene HPV Test), ed isolamento colturale, per quanto riguarda *Candida spp.*

Risultati La ricerca di HPV è risultata positiva in 39 campioni: 25 positivi per HPV ad alto rischio, 10 positivi per HPV a basso rischio, 4 positivi per HPV sia ad alto che a basso rischio. Dei 25 campioni positivi per HPV ad alto rischio, soltanto in 2 casi è stata riscontrata una correlazione con il Pap test, risultato L-SIL-HPV in uno ed H-SIL-HPV nell'altro; mentre in un altro caso il Pap test è risultato negativo in paziente con pregressa cozzazione del 1998. La

ricerca di *C. trachomatis* da tampone endocervicale è risultata positiva in 7 campioni. La ricerca di *C. trachomatis* uretrale è risultata positiva in 9 campioni urinari. In tre casi l'infezione da *C. trachomatis* era estesa sia al distretto endocervicale che a quello uretrale. La ricerca di *Candida spp.* è risultata positiva in 72 tamponi vaginali che sono stati sottoposti ad identificazione biochimica e ad antimicrogramma.

Conclusioni Dai risultati ottenuti si nota come la prevalenza di queste infezioni risulta essere del 5% per le infezioni da *C. trachomatis*, del 12% per le infezioni da HPV e del 25% per le infezioni da *Candida*. Si tratta di percentuali piuttosto alte se si considera che i soggetti analizzati non presentavano alcun segno e sintomo specifico di infezione e che soltanto in due casi il Pap test è risultato positivo per HPV.

G054

IMPLEMENTAZIONE SCREENING PER LA VALIDAZIONE BIOLOGICA DELLE UNITÀ DI SANGUE DELLA REGIONE LAZIO

Ursitti A., Schiavone M.L., Abbate I., Ronchi I., Spanò A.

Servizio di Microbiologia, Virologia ed Immunologia

Ospedale "S. Pertini" ASL RM/B

Razionale Il Centro di Riferimento Regionale Sicurezza Trasfusionale del Dipartimento di Diagnostica Strumentale ASL RM/B attivato dal 1.10.2001 per la ricerca dei costituenti virali dell'HCV propone l'estensione ai test molecolari relativi all'HIV-RNA ed HBV-DNA sulle unità di sangue raccolte nella Regione Lazio.

I dati riportati dalla letteratura scientifica degli ultimi anni indicano come il rischio d'infezioni da HBV, HCV ed HIV associate alla trasfusione si sia drasticamente ridotto, ma non del tutto annullato.

Attualmente sulle donazioni vengono eseguiti esclusivamente i test sierologici - con metodologia ELISA - tesi a rilevare rispettivamente l'anti-HIV e l'HbsAg. Ciò comporta la possibilità di trasfondere unità di sangue potenzialmente capaci di trasmettere infezione, ma risultate negative ai test di screening. Le cause possono essere ricondotte all'effettuazione della donazione nel periodo finestra, a donatori portatori d'infezione che non sierocvertono ed a varianti virali.

Metodologia L'estensione del programma di sicurezza trasfusionale ai test per la ricerca dei costituenti virali dell'HIV ed HBV con metodologia NAT non comporterà mutamenti organizzativi da parte del Centro di Riferimento Regionale per la Sicurezza Trasfusionale.

- L'attuale rete di raccolta dei campioni dei SIT della Regione Lazio, attivata nell'ottobre del 2001, che prevede l'utilizzo di sei autovetture si è rivelata efficiente ed in grado di rispondere prontamente anche a modifiche improvvise dei percorsi di raccolta.

- L'implementazione dei suddetti parametri non prevederà alcun aumento nel numero di campioni da trasportare, in quanto lo stesso campione verrà utilizzato per la determinazione contemporanea di HCV- RNA, HIV-RNA ed HBV-DNA,

- L'aumento del carico di lavoro sotteso alla determinazione dei costituenti posti in premessa non modificherà gli attuali tempi di risposta definiti entro e non oltre le 36 ore dal prelievo, così come la risoluzione dei pool positivi entro 48 ore.

Conclusioni I dati preliminari dello screening NAT-HCV indicano indubbiamente la validità di tale approccio in termini di prevenzione del rischio trasfusionale residuo, infatti, sebbene finora siano stati testati soltanto 819.000 donatori,