

102

PATTERN BIOCHIMICI, SIEROIMMUNOLOGICI E VIROLOGICI IN 15 SOGGETTI HDV POSITIVI

Greco F., Noto A., Palermo M., Perugini D., Savino O., Tenuta R., Giraldo C.

Virologia, Ospedale Annunziata, AO Cosenza

Introduzione. Da una indagine sieroepidemiologica, effettuata nel nostro laboratorio, circa la prevalenza del virus delta in Calabria, abbiamo rilevato 15 pazienti affetti da coinfezione HBV-HDV. Lo scopo del nostro lavoro è stato quello di definire i pattern biochimici, sierologici e virologici di questi pazienti, la coesistenza di infezioni da HCV e HIV e il valore clinico della presenza delle IgM anti-HDV.

Materiali e Metodi. Su 215 campioni, provenienti dalla nostra banca dati e riferiti esclusivamente al periodo gennaio-dicembre 2005, tutti appartenenti ad una popolazione HBsAg positiva, è stata determinata la presenza di IgG e IgM anti HDV (Sorin); sui campioni positivi per IgG anti-HDV sono state eseguite le seguenti determinazioni AST, ALT, HBeAb/Ag, HBcAb IgM (Abbott), HDVAg (Sorin), HBVDNA quantitativo (Real Time ROCHE e bDNA Bayer).

Risultati. Su 215 campioni HBsAg positivi, 15 pazienti mostravano la presenza di IgG anti-HDV (prevalenza HDV : 7%). Questi pazienti presentavano nel tempo (almeno due prelievi eseguiti nell'anno 2005) i seguenti pattern biochimici e sierovirologici per HBV: n.15 (100%) HBcAb IgM negativi, n.15 HBVDNA negativo o inferiore a 20.000 cp/ml (100%), n.10 con ALT alterate (68%). Il 90% di questi pazienti risultava avere una epatite anti HBeAb positiva ed inoltre tutti i pazienti mostravano una negatività per HDV Ag.

In 10 pazienti si riscontrava la presenza di IgM anti-HDV persistente nel tempo (un anno) che correlava con un'alterazione delle ALT ed assenza di viremia HBV. In 5 pazienti si rilevava una coinfezione con HCV ed in un solo paziente una coinfezione con HCV e HIV.

Conclusioni. Nel 2006 nonostante la vaccinazione obbligatoria nei confronti di HBV, la prevalenza nella nostra regione dell'infezione da HBV risulta essere ancora alta con circolazione del virus delta soprattutto nelle popolazioni a rischio. Nei pazienti HBsAg positivi/HBVDNA negativi, la positività degli anticorpi anti HDV IgM e l'incremento delle ALT sono indicatori predittivi di viremia da epatite delta.

i) SMA-V, che reagiscono con la parete dei vasi renali
ii) SMA-G, che reagiscono con la parete dei vasi e dei glomeruli renali

iii) SMA-T che, oltre ai precedenti tipi reagiscono con la membrana basale dei tubuli renali. Gli SMA-V sono soprattutto immunoglobuline di tipo IgM mentre gli SMA-G/T sono di tipo IgG. Gli ASMA sono indici di epatite autoimmune ma si possono trovare anche in malattie del connettivo, neoplasie ed infezioni microbiche-virali.

Lo scopo dello studio è determinare la frequenza degli ASMA in pazienti affetti da CMV.

Materiale. Abbiamo esaminato

1) il siero di 100 pazienti con CMV positivo, 60 femmine - 40 maschi di età compresa tra 20-50 anni (età media di 36 anni)
2) il siero di 100 volontari di sangue dello stesso sesso ed età dei pazienti esaminati come gruppo di controllo.

Metodo. È stato utilizzato il metodo della immunofluorescenza indiretta substrato di rene di ratto (BIORAD USA, MBL JAPAN), con iniziale titolo 1:40 e successiva diluizione dei sieri positivi fino alla loro negativizzazione.

Risultati. Sono risultati positivi 80 sieri (percentuale 80%), a medio titolo 1:80 (limite 1:40 -1:160) tutti di tipo SMA-V. Questi pazienti clinicolaboristicamente non presentavano malattie autoimmuni, neoplasie ed altre infezioni microbiche-virali. Del gruppo di controllo due sono risultati positivi a titolo 1:40 e di tipo SMA-V (pearson's χ^2 $p < 10^{-17}$).

Conclusione. La positività degli ASMA (80%) a titolo basso, dipende da citomegalovirus, dopo l'esclusione di altre cause che ne giustificano la presenza.

104

L'AUMENTO DEI LIVELLI DI ESPRESSIONE DELL'IFN-GAMMA È ASSOCIATO ALLA COINFEZIONE CON GBV-C IN PAZIENTI HIV INFETTI

Lalle E.¹, Abbate I.¹, Martini F.², D'Offizi G.³, Antonucci G.³, Castilletti C.¹, Dianzani F.¹, Capobianchi MR.¹

¹Laboratory of Virology,

²Laboratory of Immunology;

³Clinical Department, National Institute for Infectious Diseases, INMI "L. Spallanzani", Rome, Italy.

Spallanzani; Via Portuense 292, 00149 Roma

³IV divisione, INMI L. Spallanzani, Via Portuense 292, 00149 Roma

Introduzione. È noto che la coinfezione con il GBV-C in pazienti HIV positivi determina un effetto protettivo sulla progressione dell'infezione di HIV. L'attivazione del sistema IFN potrebbe essere un possibile meccanismo coinvolto in questo fenomeno. Lo scopo del nostro lavoro è di analizzare se il GBV-C influenzi l'espressione dei geni dell'IFN e dei geni ad esso relati e di valutare se il plasma contenente tale virus sia capace di stimolare la produzione dell'IFN.

Metodi. I livelli di endogeni degli mRNA dei geni dell'IFN-alfa e -gamma e di alcuni geni ad essi relati (PKR, OligoAS, IFNAR-1, MxA) sono stati misurati nei PBMC di pazienti GBV-C positivi e negativi HIV coinfecti, mediante real-time RT-PCR. Su una parte di questi pazienti è stata ripetuta l'analisi a tempi successivi, per valutare se il cambiamento di stato viremico riguardo al GBV-C corrispondeva a cambiamenti di espressione dei geni in analisi. È stata inoltre ana-

103

FREQUENZA DEGLI ANTICORPI ANTI-MUSCOLO LISCIO (ASMA) IN PAZIENTI AFFETTI DA CITOMEGALOVIRUS (CMV)

Kiagiadaki C., Drygiannakis I., Drygiannakis D.

Reparto di Microbiologia,

Ospedale Generico di Rethymno, Via Trandalidou 17, 74100 Rethymno, Creta, Grecia

Introduzione. Gli anticorpi anti-muscolo liscio sono anticorpi non organo specifici. Secondo Botazzo usando il metodo di immunofluorescenza su sezioni criostatiche di rene di ratto ne sono stati identificati tre tipi:

lizzata la capacità del GBV-C di stimolare in vitro la produzione di IFN su PBMC di donatori sani.

Risultati. I risultati indicano un significativo aumento dei valori di espressione dell'IFN-gamma nei pazienti GBV-C positivi. Tale aumento correlava con l'espressione di tutti gli altri geni tranne che con l'MxA e l'IFN-alfa, suggerendo una attivazione coordinata di questi geni guidata dall'IFN-gamma. Nei pazienti di cui era disponibile un prelievo a tempi successivi, si è riscontrato che la perdita/acquisizione del GBV-C era associata ad una diminuzione/aumento dei livelli di espressione di questi geni. Nei PBMC di donatori sani messi in contatto con plasma contenente GBV-C si è riscontrata una stimolazione della produzione di IFN-gamma.

Conclusioni. I nostri studi, sia ex vivo che in vitro, dimostrano un aumento dell'espressione dell'IFN-gamma collegata alla presenza del GBV-C. Tale fenomeno potrebbe essere coinvolto nell'azione protettiva del GBV-C sulla progressione dell'infezione di HIV.

105

CASI DI IgM ROSOLIA POSITIVE IN GRAVIDANZA: PROBLEMATICHE INTERPRETATIVE

Leone R.A., Minchella P., Nisticò S., Potente G.I., Borelli A., Caruso V., Caruso D., Camerino M., Carlei M.I., Piccoli M., Mustaro C., Gagliardi B., Nicolazzo A., Luciano A.

U.O. Microbiologia e Virologia, Azienda Sanitaria N. 6, Via Perugini, 88046 Lamezia Terme (CZ)

Introduzione. La maggior parte dei casi di Rosolia Congenita si verifica come conseguenza di una infezione materna primaria, anche se sono segnalati casi estremamente rari in nati da madre con pregressa immunità, conseguenza di reinfezioni. La Rosolia in gravidanza va sospettata con un risultato di positività IgM; occorreranno poi ulteriori indagini per confermare o escludere la diagnosi di infezione recente. Difficoltà d'interpretazione del test sierologico possono aversi sia per diversa sensibilità e specificità dei metodi utilizzati, sia perché le IgM possono essere presenti un anno o più dopo l'infezione, la vaccinazione o dopo una reinfezione asintomatica. È essenziale che i risultati dei tests siano inquadrati nel contesto clinico ed anamnestico, per evitare errori interpretativi e minimizzare l'ansia della gestante. Scopo del lavoro è descrivere sei casi di gravide nel primo trimestre gestazionale con IgM Rosolia positive, osservate nel periodo gennaio-aprile 2006.

Metodi. A) Vidas Rub IgG II (P > 15) e Vidas Rub IgM (P > 1,20), metodo ELFA (Biomérieux); B) Rubella IgG Avidity Chorus (Forte > 40%), metodo EIA (Diasia); C) Virus Rosolia Amplificazione Nested, metodo RT-PCR (Amplimedical).

Risultati. Le informazioni cliniche ed i risultati dei test di laboratorio sono mostrati nella tabella.

PZ	Vac	I Pre	IgM	IgG	Avid	RNA
1	S	S	P (2,20)	15	ND	N
2	N	S	P (1,45)	> 400	90	N
3	S	S	P (5,80)	42	85	N
4	N	S	P (1,26)	110	86	N
5	N	S	P (3,74)	240	80	N
6	N	S	P (1,29)	51	56	N

Tabella. Vac: Vaccinazione; Avid.: Avidità IgG (%); I Pre: Immunizzazione pregravidica; ND: non determinabile; RNA: RT-PCR Virus Rosolia.

Tutte presentavano contemporanea presenza di IgM ed IgG, senza significative variazioni di titolo ad un secondo prelievo dopo venti giorni. L'Avidità era forte in n. 5 pazienti, solo in n. 1 non determinabile (ND). Da un'accurata indagine anamnestica risultava che n. 2 erano state vaccinate da più di 3 anni e che n. 4 avevano immunizzazione pregravidica. Dai dati ottenuti non vi era presumibile evidenza di Rosolia recente (primaria o reinfezione).

Discussione e Conclusioni. Questi casi dimostrano che spesso risultati positivi per IgM in gravidanza non riflettono una infezione recente: il valore predittivo positivo in caso di immunizzazione pregravidica è ridotto e quindi un ulteriore test di screening in gravidanza è indicato solo in caso di sospetta reinfezione.

106

CONFRONTO TRA IL TEST ABBOTT REAL-TIME HCV-RNA E IL DOSAGGIO VERSANT b-DNA v.3

Manzin A.¹, Marinelli K.¹, Vecchi M.¹, Pulvirenti FR.², Valardo PE.¹

¹Laboratorio di Virologia, Istituto di Microbiologia e Scienze Biomediche, Università Politecnica delle Marche, Ancona. ²Abbott Molecular, Roma

Introduzione. La determinazione della carica virale di HCV è uno degli ambiti dove la tecnologia in real-time può offrire indubbi vantaggi. I dosaggi in real-time, per l'ampio intervallo lineare e la spiccata sensibilità, consentono infatti di superare l'attuale dicotomia di utilizzo di test qualitativi (altamente sensibili) e quantitativi (con sensibilità insufficiente a verificare l'eradicazione dell'infezione). Sono state valutate le prestazioni di Abbott Real-Time HCV-RNA, un dosaggio basato su estrazione automatica e probe lineari fluorescenti (range dinamico con volume iniziale 0,5 ml=12-10⁸ UI/mL). La chimica non esonucleasica del test, consente, attraverso uno step di ibridizzazione/lettura posto a 35°C, di quantificare correttamente target con "mismatches" nella regione di ibridizzazione del probe, offrendo una salvaguardia in più nei confronti della diversità genetica.

Metodi. 68 campioni retrospettivi da pazienti con infezione da HCV, già testati con b-DNA v3, sono stati analizzati con Abbott Real-Time (volume iniziale 0,2 mL, range 30-10⁸ UI/mL).

Risultati. Per i 32 campioni con valore compreso nel range dinamico di entrambi i test, il coefficiente di correlazione r è stato pari a 0,990. Il 96,9% (31/32) dei campioni ha mostrato una differenza inferiore a 0,5 log (84% inferiore a 0,3 log). La differenza media Abbott-bDNA è stata di 0,14 log UI/mL (DS=0,16 log). Dei 36 campioni con b-DNA <615 UI, 30 sono risultati con valori <30 UI/mL (4 con target rilevato) e 6 con risultato quantificabile (78, 83, 206, 438, 513, 1170 UI/mL) con il test real-time.

Conclusioni. Il dosaggio Abbott Real-Time ha mostrato un'eccellente correlazione con il test b-DNA v.3.

L'espressione dei risultati in UI permette, nonostante il differente principio dei test, di ottenere risultati confrontabili (bias=0,15 log). Come atteso, fatta salva la specificità del dosaggio, sono stati rilevati campioni con livelli viremici bassi (confermati con saggio RT-PCR qualitativo), determinati solo con test in real-time.