

**P181****CONSIDERAZIONI SUL TEST DI SCREENING antiHIV ESEGUITO CON METODO AUTOMATICO IN CHEMILUMINESCENZA.**

Gagetta M., Mauri A., Cecchini F., Turrini D., Guagnellini E.

*Laboratorio di Biochimica Clinica e Microbiologia, Azienda Ospedaliera San Paolo, Milano.*

È noto che il test di screening per il dosaggio degli anticorpi antiHIV deve essere altamente sensibile per poter rilevare la presenza di anticorpi fin dalle prime fasi della sieroconversione, e altrettanto specifico per non dare adito a dubbi interpretativi. Scopo di questo lavoro è di verificare l'accuratezza dei risultati dei test anti-HIV1/2 eseguiti sul sistema ORTHO Vitros ECi (cut off dichiarato  $\geq 1$ ). I dati riportati sono riferiti al periodo Gennaio 2002 – Dicembre 2002. Sono stati eseguiti 5020 test di screening anti-HIV sia col sistema ORTHO Vitros ECi sia col sistema BECKMAN Access. Sono risultati significativi per la nostra indagine 110 campioni in quanto reattivi o dubbi allo screening ECi. Sono stati inoltre eseguiti test di conferma quali Western Blot e/o p24 e/o HIV-RNA. Per meglio valutare l'accuratezza dei risultati ORTHO Vitros ECi i 110 campioni sono stati da noi suddivisi nelle seguenti classi. 1° classe: campioni non reattivi ma sopra la media dei negativi compresi tra 0.4 – 0.9 [7 campioni / 110 totali (6%)]; 2° classe: campioni reattivi compresi tra 1 – 9.9 [18 campioni / 110 totali (16%)]; 3° classe: campioni reattivi compresi tra 10 – 19.9 [5 campioni / 110 totali (4%)]; 4° classe: campioni reattivi  $\geq 20$  [80 campioni / 110 totali (74%)]. Dalla distribuzione di questi dati possiamo osservare come i risultati dubbi che cadono nella prima classe siano solo 7 (6%) mentre sono prevalenti i positivi franchi (74%). Dei 7 campioni appartenenti alla prima classe 5 sono stati confermati negativi mentre gli altri 2 sono stati refertati come deboli positivi: si trattava infatti di bambini nati da madre sieropositiva che stavano perdendo gli anticorpi materni. Dei 103 campioni risultati reattivi con il metodo ORTHO Vitros ECi, 6 sono stati refertati come negativi (6%) alla luce dei risultati dei test di conferma sopra indicati ed appartengono tutti alla 2° classe; mentre i restanti 97 campioni (94%) si sono confermati positivi. Inoltre in seguito al confronto con i dati forniti da ACCESS non è stato individuato nessun falso negativo. Alla luce dei risultati ottenuti possiamo affermare che il sistema ORTHO Vitros ECi per il dosaggio degli anticorpi antiHIV offre affidabili performance analitiche.

**P182****CARATTERIZZAZIONE SIEROLOGICA DELL'INFEZIONE ACUTA E CRONICA DA HBV**C. Galli<sup>1</sup>, A. Rodella<sup>2</sup>, A. Gussago<sup>2</sup>, D. Osmani<sup>2</sup><sup>1</sup>Medical Marketing, Abbott Diagnostici, Roma<sup>2</sup>III Laboratorio Analisi, Spedali Civili, Brescia

La diagnosi di infezione acuta da virus dell'epatite B (HBV) si basa classicamente sulla presenza di IgM anti-HBc, che però è di frequente riscontro, a bassi livelli, anche nelle epatite croniche B. Per diverse malattie infettive, è ormai invalso l'uso di "datate" l'infezione mediante valutazione dell'indice di avidità degli anticorpi, e in questo studio abbiamo inteso valutare la possibile applicazione di questo parametro

nella diagnosi differenziale di infezione acuta da HBV, in associazione con criteri demografici e sierologici.

**Pazienti e metodi.** Abbiamo considerato due gruppi di pazienti ben caratterizzati da un punto di vista epidemiologico, clinico e sierologico: 15 casi di epatite acuta B e 75 casi di epatite cronica B, con follow-up di 1-4 anni. Per tutti i casi erano noti sesso, età e marcatori HBV (HBeAg, anti-HBe, anti-HBc/IgM). In un numero rappresentativo di pazienti dei due gruppi è stato inoltre valutato l'indice di avidità (IA) degli anticorpi anti-HBc, calcolato come rapporto del segnale generato da due aliquote di siero, diluite 1:10 rispettivamente in guanidina 1M e in tampone e analizzate con il test AxSYM Core.

**Risultati.** I pazienti con epatite acuta erano più giovani (età media: 37,9 anni contro 50,9), in maggioranza positivi per HBeAg (92,9% contro 21,3% nelle croniche) e tutti positivi per IgM anti-HBc, che erano rilevabili almeno in un prelievo nel 54,7% dei casi di epatite cronica. L'IA era  $< 0,8$  nel 66,7% delle epatite acute e solamente nel 5,9% di 68 campioni da 16 pazienti con epatite cronica (media: 1,38).

**Conclusioni:** anche se è difficile operare una distinzione tra infezione acuta e cronica da HBV in base ai parametri rilevati su un singolo campione, i nostri dati indicano che l'associazione tra la positività per HBeAg, alti livelli di IgM anti-HBc e una bassa avidità per IgG anti-HBc hanno un valore predittivo positivo assai elevato per una diagnosi di epatite acuta B.

**P183****STUDIO SU DONATORI DI SANGUE HCV / HIV1 POSITIVI PRESENZA / ASSENZA DI VIREMIA CONFRONTI RATIO CHLIA E RIBA SCORE.**

Ghiazza P, Chiara M, Demarin G, Cornagliotto G, Albin L, Ricotti M, Demarchi G, Gariglio V, Martinelli A, Trivè M, Garofalo A, Lupo M, Palazzo M, Tea B, Massaro A.L.

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

**Introduzione:** Lo screening sui donatori di sangue viene condotto nel nostro laboratorio di sierologia con il sistema Abbott Prism dal 11.6.1998 per HBsAg, HIV, HCV e nel laboratorio di biologia molecolare con la tecnologia Chiron TMA per la ricerca di HIV1 Rna e HCV Rna (NAT test) a partire dal 4.11.2001. È stato condotto uno studio su 190.000 donazioni di sangue provenienti da 50.000 donatori. Lo scopo di tale studio è stato valutare la percentuale di soggetti HIV1/ HCV positivi non-viremici, il pattern e lo score delle bande positive al test supplementare RIBA (ditta Ortho).

**Metodo:** Abbiamo comparato le Ratio ottenute con il Prism per i soggetti HIV1/HCV positivi e la presenza di bande al test RIBA confrontando i dati con i valori della viremia.

**Risultati:** la percentuale di HCV Ab positivi confermati non viremici è del 30% in accordo con i risultati internazionali su una popolazione di donatori selezionati mentre la popolazione normale riporta il 20%. I campioni HCV positivi confermati esprimono tutte le bande con una prevalenza di C33 al 92,8%, C22 al 90,4%, C100 al 59,5% e NS5 al 50%. All'interno di questo gruppo i donatori con livelli patologici di ALT ed Rna-positivi mostrano uno score di 4+ a tutte le bande. Nei campioni HCV positivi indeterminati si esprimono solo la C33 e la C22 al 50%. I test NAT mostrano una buona separazione tra negativi e positivi (tutti i positivi hanno Ratio  $> 9$ ) mentre il potere discriminatorio dei test Chlia è più basso nonostante una forte correlazione (100%) tra Ratio comprese fra 6-9 e positività al RIBA. Tale correla-

zione scende al 50% per Ratio comprese tra 3-6 E AL 10% PER Ratio tra 1-3.

Conclusioni: perchè continuare ad eseguire i test RIBA quando dallo screening si ottengono valori di Ratio superiori a 6?

## P184

### GENOTIPIZZAZIONE DI HPV A "LOCALIZZAZIONE GENITALE" CON METODO IMMUNOENZIMATICO (ELISA) E METODO DELLA IBRIDAZIONE INVERSA.

Giannattasio A., \*Ricco C.S., Cuniato V., Falco E., Alterio A., Scancarriello G., Galano G., Smeraglia R.

*Virologia P.O. "C. Ascalesi": Direttore Prof. Riccardo Smeraglia - A.S.L. Napoli I, \* U.O.C. Ostetricia e Ginecologia P.O. SS. Annunziata Napoli - A.S.L. Napoli I*

I papilloma virus umani (HPV) rappresentano una delle cause più comuni di malattie sessualmente trasmesse. In rapporto all'associazione con lesioni precancerose e cancerose della cervice uterina, gli HPV vengono raggruppati in base al rischio oncogenico (basso, medio, alto).

Lo scopo del nostro studio è quello di porre a confronto due metodiche che consentono la genotipizzazione dell'HPV a localizzazione uterina: 1) screening, mediante metodo ELISA, della regione genomica L1 (Amplimedical SpA) 2) INNO-LiPA HPV Genotyping (Innogenetics SRL).

Lo studio in oggetto è stato effettuato su 10 pazienti, tra 18 e 50 anni, sessualmente attive e affette da patologia cervicale indotta da HPV. Ogni paziente è stata sottoposta al prelievo per lo screening e la tipizzazione virale e al Pap Test. Il genoma virale è stato estratto ed amplificato mediante PCR utilizzando una metodica dell'Amplimedical SpA. Le PCR che hanno dato esito positivo sono state sottoposte a genotipizzazione virale, utilizzando sia il Geno-Kit HPV L1 generale-ELISA (Amplimedical) sia l'INNO-LiPA HPV Genotyping (Innogenetics), basato sul principio della ibridazione inversa di parte della regione L1 del genoma dell'HPV.

Delle 10 pazienti sottoposte allo screening, 7 sono risultate positive all'HPV. I 7 campioni positivi, sottoposti a genotipizzazione virale con entrambe le metodiche, hanno dato i seguenti risultati: i campioni 1, 3, 4 e 7 erano positivi per il genotipo 16 con entrambe le metodiche; i campioni 2 e 6 risultavano non genotipizzabili con metodica Amplimedical e positivi per il genotipo 16 con metodica Innogenetics; infine il campione 5 risultava non genotipizzabile con metodica Amplimedical e positivo per i genotipi 11 e 52 con metodica Innogenetics.

I risultati ottenuti mostrano discordanze tra le due tecniche usate per la genotipizzazione dell'HPV. Ciò, verosimilmente, potrebbe essere dovuto all'esiguità dei campioni presi in esame. Pertanto sarà necessario confermare i dati ottenuti su un numero più congruo di campioni.

## P185

### RICERCA DI GENOTIPI DI PAPILOMAVIRUS GENITALI: CONFRONTO FRA DUE METODI MOLECOLARI

Grossini E., Nicosia A.M., Ravanini P., Fortina G.

*Laboratorio di Microbiologia e Virologia, Ospedale Maggiore Novara*

In questo studio, sono stati messi a confronto due test del

commercio per la genotipizzazione degli HPV genitali: il test "INNO-LiPA HPV Genotyping" (Innogenetics) e i test "Geno-Kit HPV L1 Generale" e "Geno-Kit HPV L1 Alto Rischio" (Amplimedical).

L'abbinamento dei due test Geno-Kit HPV L1 di Amplimedical permette la tipizzazione di 10 differenti tipi virali, ritenuti dalla letteratura i più diffusi nella popolazione: 2 tipi a "basso rischio" (6 e 11), 4 tipi a "rischio intermedio" (33, 35, 52 e 58) e 4 tipi ad "alto rischio" (16, 18, 31 e 45). Il test INNO-LiPA permette invece la tipizzazione di 26 differenti tipi di interesse genitale: 4 ad "alto rischio" (16, 18, 31 e 45), 9 a "rischio intermedio" (33, 35, 39, 51, 52, 56, 58, 59, 68) e 13 a "basso rischio" (6, 11, 34, 40, 42, 43, 44, 53, 54, 66, 70, 73 e 74).

In un primo gruppo sono stati analizzati in doppio, con entrambi i test considerati, 39 campioni di cytobrush cervicale risultati positivi per la ricerca di HPV-DNA (con test di amplificazione HPV Screening COMBI KIT Special - Amplimedical). In un secondo gruppo di campioni sono stati considerati i risultati provenienti da 106 campioni analizzati con i test Geno-Kit HPV L1 e da altri 124 campioni analizzati con il test INNO-LiPA.

Analizzando i risultati ottenuti nel primo gruppo di 39 campioni, si nota come la concordanza dei risultati è completa solo in 7 campioni su 39 (17,9%), mentre i due test risultano discordanti in 32 casi su 39 (82,1%). Questa discordanza appare parziale (almeno un tipo virale comune nel caso di coinfezioni riscontrate da uno o entrambi i test) nel 28,2% dei casi (11/39); mentre la discordanza è totale in ben il 53,8% dei casi (21/39).

In entrambi i gruppi, le differenze più importanti riguardano i genotipi a "basso rischio" (ben il 28,2% dei casi per il test INNO-LiPA e solo il 4,7% per i test Geno-Kit HPV L1); e per i genotipi a "rischio intermedio" (il 35,5% per il test INNO-LiPA contro il 10,4% per i test Geno-Kit HPV L1). Sovrapponibili appaiono invece le positività nel caso dei tipi ad "alto rischio" (35,5% dei casi per il test INNO-LiPA e 37,7% per i test Geno-Kit HPV L1).

## P186

### REATTIVITA' ANTI-HCV A BASSO LIVELLO CON TRE TEST DI SCREENING E UN TEST SUPPLEMENTARE: RILEVANZA E POSSIBILI CAUSE

A. Gussago<sup>1</sup>, A. Rodella<sup>1</sup>, S. Metelli<sup>1</sup>, C. Galli<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*III Laboratorio analisi, Spedali Civili, Brescia;*

<sup>2</sup>*Abbott Divisione Diagnostici, Roma*

Una reattività anti-HCV a basso livello con i test di screening è un evento frequente e spesso non chiarito dai test di secondo livello, che indicano nella maggior parte dei casi una situazione di reattività rivolta verso antigeni di una sola regione di HCV. In questo studio abbiamo considerato da un punto di vista demografico e analitico i risultati "dubbi" per anti-HCV osservati nell'arco di 5 mesi.

**Pazienti e metodi:** sono stati considerati 150 campioni ottenuti da altrettanti pazienti (70 femmine; mediana età 60,5 anni e 80 maschi; mediana età 56 anni) tra settembre 2003 e febbraio 2004, di cui: a) 53 negativi "alti" (S/CO tra 0,50 e 0,99) al test di screening (AxSYM HCV 3.0); b) 94 con reattività a basso livello al test di screening (S/CO tra 1 e 10); 3 con reattività medio-alta al test di screening (S/CO >10) di cui 2 negativi al test supplementare. Tutti i campioni sono stati caratterizzati con il test supplementare Chiron RIBA-3 analizzati anche con altri due test per screening anti-HCV,