

e il 2003, e su un gruppo di 34 pazienti (43 campioni) con sospetta infezione acuta. Tutti i campioni sono stati analizzati per IgM anti-HBc con il nuovo metodo su Architect, che prevede una soglia di positività a un valore S/CO di 1 e una "zona grigia" tra 0,5 e 1. Sono stati confrontati sia i risultati qualitativi che i valori semiquantitativi (S/CO Architect e Index AxSYM).

Risultati. Tutti i campioni ottenuti dai pazienti con epatite acuta o sospetta epatite acuta B sono risultati positivi con entrambi i test per IgM anti-HBc, ma il segnale di positività era molto più intenso con Architect (media S/CO nei due gruppi: 21,0 e 25,2) che con AxSYM (media Index: 3,23 e 3,03).

Nelle epatiti croniche il 54,7% dei pazienti mostrava una positività IgM, quasi sempre a basso livello e concordante tra i due metodi, su almeno un prelievo. La correlazione tra Architect e AxSYM, per valori S/CO Architect <3,0, era elevata con regressione $Y = 1,08x + 0,113$.

Conclusioni: il nuovo test per IgM anti-HBc su piattaforma Architect ha mostrato delle caratteristiche simili al test MEIA su AxSYM per quanto concerne la capacità di identificare le IgM a basso titolo. Il "range" dinamico più ampio del test Architect può consentire una migliore valutazione delle infezioni acute.

P204

VALUTAZIONE PRELIMINARE DEGLI ANTICORPIANTI HTLV I-II IN PAZIENTI HIV-SIEROPOSITIVI ED IN POPOLAZIONE DI CONTROLLO

Rossi A, Bassani A, Berrone A, Pinese LA, Tamborini A, Canali E e Toniolo A.

*H. di Circolo e Università degli Studi dell' Insubria - VARESE
Laboratorio di Microbiologia, Virologia e Citogenetica
(Direttore: Prof. Antonio Toniolo)*

I virus HTLV I-II sono stati i primi retrovirus riconosciuti associati a malattia nell'uomo; HTLV-I è l'agente eziologico di linfomi (ATL) nei pazienti adulti, di mielopatie e della paraparesi spastica tropicale (HAM/TSP).

La diagnosi microbiologica si basa sulla ricerca diretta di HTLV I-II e sulla diagnosi sierologica, con metodi ELISA ed immunoblot.

In questo studio preliminare sono stati rilevati gli anticorpi anti HTLV I/II utilizzando un metodo ELISA (Genelabs Diagnostics).

Sono stati studiati 61 sieri ottenuti da pazienti HIV-sieropositivi - confermati con immunoblot e con viremia - e 44 sieri come gruppo di controllo.

Sono state valutate statisticamente tutte le estinzioni ottenute nei sieri analizzati utilizzando metodi di statistica non parametrica; il valore di OD considerato come cut-off è stato >0,295, che rappresenta il 95° percentile dei valori rilevati nel gruppo di controllo.

Considerando tale cut-off ben 15 sieri su 61 totali appartenenti al gruppo dei pazienti HIV-sieropositivi contro 1 solo valore superiore al cut-off nel gruppo di controllo.

Per quanto riguarda i livelli di OD rilevati si evidenzia una differenza statisticamente significativa ($p = 0,0012$) tra i due gruppi di sieri studiati.

P205

INDAGINI SIEROLOGICHE E VALUTAZIONE DELLA VIREMIA CON METODI IMMUNOLOGICI E DI BIOLOGIA MOLECOLARE IN UNA POPOLAZIONE DI TRAPIANTATI RENALI CON INFEZIONE DA CITOMEGALOVIRUS (HCMV).

Rossi A, Bassani A, Trabacchin C, Berrone A e Toniolo A.

*H. di Circolo e Università degli Studi dell' Insubria - VARESE
Laboratorio di Microbiologia, Virologia e Citogenetica
(Direttore: Prof. Antonio Toniolo)*

Nei pazienti sottoposti a trapianto di rene l'infezione da Citomegalovirus [HCMV] è spesso causa di malattia e talora di mortalità post-trapianto. Scopo del presente lavoro è stato di studiare la risposta sierologica e le viremie - con metodo immunologico con la pp65 antigenemia e mediante biologia molecolare - utilizzando campioni di plasma raccolti in modo consecutivo da pazienti sottoposti a trapianto di rene ed in profilassi con Ganciclovir.

Gli anticorpi IgG ed IgM anti-HCMV sono stati studiati mediante ELISA (Diasorin); gli anticorpi IgM sono stati rivalutati mediante un secondo ELISA (Dade Behring). La determinazione della pp65 antigenemia è stata eseguita su leucociti mediante immunofluorescenza (Argene), mentre HCMV-DNA è stato studiato con PCR quantitativa (Roche) e i livelli di DNA borderline sono stati rivalutati mediante nested-PCR (Bioline). Sono stati studiati i campioni biologici di 31 pazienti per un totale di 220 plasmi, 220 pp65 antigenemie e 60 HCMV-DNA mediante PCR quantitativa.

Durante un periodo di circa 6-7 mesi, 10 pazienti durante o dopo profilassi con Ganciclovir sono andati incontro a malattia da HCMV, 4 nel primo mese post-trapianto, 4 dopo 2-6 mesi e 2 oltre i 6 mesi. La revisione dei dati ha evidenziato che con attento monitoraggio con pp65-antigenemia e HCMV-DNA si è ottenuta una risposta microbiologica positiva in 1-8 giorni. Il dato sierologico ha spesso mostrato, seppur tardivamente, un significativo aumento delle IgG ed un comportamento variabile delle IgM. Considerando i pazienti con dati virologici positivi il livello di IgG precedenti alla positivizzazione, ottenuti al momento del trapianto, erano spesso inferiori a 3,5 UI/mL; tuttavia particolare attenzione, nonostante i pochi casi, si sarebbe dovuta prestare a quei rari pazienti con IgG superiori a 8,5 -10 UI/mL.

Visti i tempi di positivizzazione virologica ottenuti, una più stretta collaborazione tra Nefrologi, Infettivologi e Microbiologi potrebbe consentire di ottenere una risposta virologica in tempi ancora più vicini alla fasi presintomatiche delle riattivazioni da HCMV.

P206

ANALISI DI DATI SIEROLOGICI E DI BIOLOGIA MOLECOLARE IN INFEZIONI DA CITOMEGALOVIRUS (HCMV) IN TRE ANNI DI INDAGINI IN POPOLAZIONE NON SELEZIONATA, IN CASI MATERNO-FETALI ED IN POPOLAZIONI A RISCHIO.

Rossi A, Tamborini A, Baj A, Bassani A, Berrone A, Maccarini A, Pinese LA e Toniolo A.

*H. di Circolo e Università degli Studi dell' Insubria - VARESE
Laboratorio di Microbiologia, Virologia e Citogenetica
(Direttore: Prof. Antonio Toniolo)*

Il citomegalovirus umano [HCMV] negli ospiti suscettibili può dare infezioni primarie, divenire latente e riattivarsi; può provocare malattie devastanti o accompagnarci come un ospite silente per tutta la vita.

Nel periodo da gennaio 2001 ad ottobre 2003 sono stati eseguiti 13677 test per ricerca di anticorpi anti-Citomegalovirus; sono stati utilizzati test ELISA per ricerca IgG ed IgM anti-HCMV [Diasorin], un secondo test ELISA per ricerca IgM [Dade-Behring], un test di affinità o "avidità" per IgG anti-CMV [Radim] e test virologici - pp65-antigenemia [Argene], nested-PCR [Bioline] e PCR quantitativa [Roche].

Su 13677 controlli per anticorpi anti-HCMV nel 5.9% dei campioni è stato necessario eseguire le suddette indagini sierologiche di approfondimento per poter inquadrare infezioni primarie, riattivazioni, infezioni croniche e/o cross-reazioni da altri agenti infettivi. In 45 casi - pari allo 0.42% - si è potuta evidenziare una infezione; tuttavia il totale dei casi con malattia clinicamente manifesta sono stati 10, lo 0.094%.

In circa 3 anni sono stati studiati 30 casi di infezione materna in corso di gravidanza; 15 avevano una chiara infezione primaria - sierconversione IgG, IgM positive, eventuale pp65-antigenemia, PCR positiva su sangue e/o urine e/o liquido amniotico. In 8 di questi 15 casi erano presenti nei feti e nei neonati dei chiari segni clinici di malattia citomegalica, pari al 53.3%; in 3 casi la gestante era anche HIV-coinfetta. Se consideriamo gli 8 casi di malattia da HCMV relativamente al totale delle infezioni, si sono verificati nel 17.7% delle infezioni con chiara diagnosi sierovirologica.

Per una corretta valutazione microbiologica è necessario integrare metodi sierologici - da utilizzare in modo estensivo su popolazioni non selezionate, o in corso di gravidanza o durante l'allattamento o per seguire neonati di madri a rischio - con metodi virologici come pp65 antigenemia e nested-PCR su sangue, urine, liquidi amniotici, ma anche liquor.

P207

RELAZIONE TRA LIVELLI DI VIREMIA E DI ANTIGENE "s" IN UNA POPOLAZIONE DI PAZIENTI HBsAg POSITIVI.

Rossi A, Rivetta E, Bassani A, Berrone A, Pinese LA, Canali E, Milano A, Rinaldi L e Toniolo A.

H. di Circolo e Università degli Studi dell'Insubria - VARESE
Laboratorio di Microbiologia, Virologia e Citogenetica
(Direttore: Prof. Antonio Toniolo)

La diagnosi microbiologica di epatite B si basa sulla ricerca sierologica dell'antigene "s" [HBsAg], dell'antigene "e" [HBeAg]; l'utilizzo della determinazione della viremia [HBV-DNA] è indicata per valutare l'infettività e la prognosi in corso di epatite acuta e per stadare le epatiti croniche da HBV.

Scopo del presente lavoro è stato quello di studiare la relazione esistente tra HBsAg e viremia quantitativa, esaminando campioni clinici ottenuti da pazienti antigene "s" positivi. Per la determinazione di HBsAg è stato utilizzato un test ELISA con strip sensibilizzate con 4 monoclonali anti-HBs (Diasorin); per le viremie è stata utilizzata una metodica di PCR quantitativa (Roche). Sono stati studiati preliminarmente 166 campioni di siero ottenuti da 121 pazienti HBsAg-positivi; sui campioni di 28 pazienti, 10 con epatite B acuta - una fulminante - i restanti con epatite B cronica sono stati rideterminate sja HBsAg, che la viremia quantitativa entro un range da 10^2 - 10^9 copie/mL di HBV-DNA. La determi-

nazione di HBsAg è stata eseguita ripetutamente a diverse diluizioni dei sieri in esame; dall'analisi dei dati si è utilizzato come riferimento per la comparazione con la viremia i livelli di estinzione [OD] ottenuto sui campioni diluiti 1:160. Livelli di OD compresi tra 1,5 e 3,0 spesso avevano viremie superiori a 10^5 copie/mL di HBV-DNA, mentre livelli di HBsAg superiori ad una OD di 3,0 avevano un range di viremie compreso tra 10^2 - 10^9 copie/mL.

Il cardine della diagnosi clinica di epatite B si basa indubbiamente su clinica, dati biochimici e determinazione di HBsAg e/o di HBeAg; tuttavia la positività per HBsAg sola non consente un corretto inquadramento della infettività e in assenza di dati clinici evidenti di infezione cronica una corretta valutazione di HBsAg e della viremia quantitativa potrebbero essere indicati con ragionevole rapidità anche ricorrendo a singole PCR quantitative.

P208

VALUTAZIONE DEL SISTEMA AUTOMATICO IMMULITE 2000 PER LA RICERCA DI ANTICORPI ANTI TOXOPLASMA E RUBELLA VIRUS.

Moroni A., Ruscello S., Biagi M., Capitani S., Della Bella E., Cavrini F., Storni E., Sambri V.

U.O. Microbiologia - Ospedale S.Orsola, Via Massarenti 9, 40138 Bologna

Le infezioni del complesso TORCH costituiscono ancor'oggi una importante causa di patologia trasmissibile in linea verticale da madre a feto durante la gravidanza e la sola possibilità di esclusione del rischio è la diagnosi sierologica di stato immune.

In questo studio sono state valutate le performance diagnostiche dei test per la ricerca di anticorpi di classe IgG ed IgM nei confronti di T. gondii e Rubella virus su Immulite 2000, un sistema ad accesso random, in automazione totale della DPC (Los Angeles, USA) distribuito da Medical Systems. La comparazione è stata condotta verso i sistemi ALISEI/Radim, BEPIII/DADE Behring, VIDAS/BioMerieux e con il sistema BEPIII/DADE Behring e VIDAS/BioMerieux per rosolia.

Sono stati saggiati 374 sieri per la ricerca di IgG ed IgM verso T.gondii e 253 campioni per la determinazione di IgG ed IgM verso Rubella virus.

La performance di Immulite 2000 rispetto agli altri sistemi è risultata nel complesso equivalente con una buona correlazione nei dati ottenuti.

Più precisamente i valori di concordanza con gli altri sistemi per la ricerca di IgG anti T.gondii sono stati: 100% per i negativi, 98.1% per i positivi.

Per IgM: 96.9% sui negativi e 93.5% sui positivi. Per la ricerca di IgG anti rosolia la concordanza è stata del 100% per i negativi e del 99.5% per i positivi, mentre per le IgM la concordanza è stata del 100% sui negativi.

L'Immulite 2000 si è dimostrato uno strumento tecnologicamente avanzato, di facile utilizzo ed impatto positivo nell'ambito del laboratorio.

In particolare, il software dello strumento offre all'operatore ampia possibilità di interagire con il sistema per una migliore gestione dei dati e del controllo di qualità.