

085

DETERMINAZIONE QUANTITATIVA DI BKV E JCV DNA CON AFFIGENE BKV TRENDER ED UNA IN HOUSE REAL-TIME PCR PER JCV ASSOCIATA ALL'USO DEL SISTEMA BIOROBOT MDX

Abbate I., Bennici E., Neri S., Brega C., Paterno M. and Capobianchi M.R.

INMI L. Spallanzani, Rome, Italy

Introduzione. La determinazione quantitativa di BKV e JCV DNA è importante nel monitoraggio dei trapiantati di rene. L'identificazione di valori di viremia di rilevanza clinica è ostacolata da problemi di standardizzazione dei metodi.

Scopo della studio è stato la valutazione dell'uso combinato di un kit commerciale per la determinazione quantitativa di BKV DNA e di una Real time PCR specifica per JCV, accoppiata ad un sistema automatizzato, generico, di estrazione degli acidi nucleici.

Materiali e Metodi. È stato utilizzato il pannello dello studio pilota per la determinazione quantitativa di genomi di BKV e JCV del QCMD 2007. I campioni sono stati estratti con il sistema automatico BioRobot MDx Workstation (Qiagen). Gli estratti sono stati amplificati per il BKV con un metodo commerciale (BKV Affigene Trender, Sangtec) e mediante una Real-time PCR in house per il gene VP1 di JCV.

Risultati. Il sistema di amplificazione Affigene BKV Trender è stato in grado di identificare tutti i campioni positivi di BKV e tutti i campioni doppiamente positivi per BKV e per JCV. Tutti i negativi sono stati correttamente identificati. È stata osservata una sovrastima delle concentrazioni di BKV genotipo 2.

La Real Time PCR per JCV ha correttamente identificato 7 degli 8 campioni positivi per JCV e tutti i campioni doppiamente positivi per BKV e per JCV. Un campione positivo per BKV è stato considerato positivo per JCV in modo aspecifico, mentre tutti i negativi sono stati correttamente identificati.

Dai dati di ciclo soglia forniti dal QCMD si è notata una sovrastima della concentrazione di JCV genotipo 2 ed una sottostima di quelli di genotipo 1.

Conclusioni. L'uso combinato dell'estrazione automatica con BioRobot MDx Workstation e di Affigene BKV Trender e della Real Time per JCV ha dato buoni risultati, anche se esistono differenze di quantizzazione dei diversi genotipi di questi poliomavirus.

086

BK VIRUS AND JC VIRUS COINFECTION IN A RENAL TRANSPLANT RECIPIENT

Astegiano S.¹, Costa C.¹, Bergallo M.¹, Sidoti F.¹, Terlizzi M.E.¹, Segoloni G.P.², Cavallo R.¹

¹Dept. of Public Health and Microbiology, Virology Unit, University of Turin

²Dept. of Internal Medicine Renal Transplant Unit Molinette Hospital Turin, Italy

Introduction. JC virus (JCV) was first isolated in a patient with progressive multifocal leukoencephalopathy. Most cases of polyomavirus-associated nephropathy (PVAN) in renal transplant recipients are caused by BK virus, however recent reports have evidenced a role for JCV, alone or in coinfection with BKV. We describe a case of ureteral lesions in a renal transplant recipient with a BKV/JCV coinfection.

Methods. Following renal transplantation, a 65-years-old woman evidenced deterioration of renal function and ureteral stenosis. PCR for BKV- and JCV-DNA on serum and urine samples and ureteral specimen was performed.

Results. On day 12 PCR was negative for serum and urine BKV DNA and serum JCV DNA, while a viruria of 10² JCV copies/ml was evidenced. On day 51 a pyeloureteral anastomosis was performed, evidencing ureteral stricture and detachment. Histological investigation evidenced cystic ureteritis and mild chronic inflammation. Neither nuclear findings consistent with viral infection nor positive reaction for SV40 antibody were present. PCR on ureteral specimen evidenced a viral load of 10³ BKV and 10⁸ JCV copies/μg of extracted DNA. Clinical conditions and allograft function worsened; transplantectomy was performed on day 65. Histological investigation of the explanted kidney disclosed acute microabscessual pyelonephritis due to *C. albicans*, a small infarction and cystic pyelitis. Notwithstanding immunosuppression withdrawal, transplantectomy, and anti-fungal therapy, the patient died on day 83. Autopsy was not performed.

Conclusions. It should be recommendable a close monitoring of Polyomaviruses DNA serum and urine levels in order to diagnose a viral reactivation in its early stages and the execution of a quantitative PCR on tissue samples. Clinical and pathogenic significance and the role of JCV in this context remain uncertain, as we cannot establish a correlation between the development of ureteral lesion and the PCR results on tissue specimen.