

127

### PREVALENZA DEL VIRUS DELL'EPATITE B (HBV) E QUADRI SIEROLOGICI IN UN CAMPIONE DI POPOLAZIONE OSPEDALIERA

Sensini A.<sup>1</sup>, Rampini F.<sup>1</sup>, Zuccherini F.<sup>1</sup>, Scarpelloni M.<sup>1</sup>, Castronari R.<sup>1</sup>, Galli C.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Sezione di Microbiologia, Dipartimento di Medicina Sperimentale e Scienze Biochimiche, Università di Perugia;

<sup>2</sup>Abbott Diagnostici, Roma, Italy

**Introduzione e scopo del lavoro.** Determinare la prevalenza di marcatori naturali e vaccinali di infezione da virus dell'epatite B (HBV) nella popolazione afferente al Laboratorio di Microbiologia dell'Università di Perugia, al fine di valutare gli effetti della campagna vaccinale ed eventuali differenze tra italiani e stranieri.

**Metodi.** Sono stati raccolti i risultati per i tre marcatori HBV di primo impatto (HBsAg, anti-HBc, anti-HBs) ottenuti nell'arco di 5 mesi. I campioni con positività per il solo anti-HBc sono stati testati anche per HBeAg, anti-HBe e IgM anti-HBc. Tutti i test sierologici sono stati effettuati con il sistema automatizzato Abbott Architect.

**Risultati.** Abbiamo valutato 3.515 soggetti, 3.221 (91,6%) italiani (53,4% maschi, 46,6% femmine, età media 53,2±19,8 anni) e 294 (8,4%) stranieri (41,2% maschi, 58,8% femmine, età media 36,8±15,8 anni). La prevalenza di marcatori di infezione naturale da HBV era significativamente inferiore tra gli italiani (16,5% vs. 37,4%;  $p < 0,001$ ); il 67% degli italiani con età inferiore ai 29 anni era positivo solamente per anti-HBs, rispetto al 14,3% degli stranieri nella stessa fascia di età ( $p < 0,001$ ). La positività per HBsAg era rilevabile in 77 casi (2,4%) tra gli italiani e in 17 casi (5,8%) tra gli stranieri. Il quadro di anti-HBc isolato era presente nel 4,3% degli italiani e nell'8,8% degli stranieri, e la frequenza incrementava con l'età. Il 5,2% di questi soggetti presentava una positività, a basso livelli, per IgM anti-HBc, ed il 60% tra questi ultimi aveva ALT elevate.

**Conclusioni.** Sedici anni dopo l'inizio (1991) della vaccinazione di massa contro l'HBV, l'Italia sta diventando un paese a bassa endemia. La maggior parte dei giovani italiani presenta un'immunità indotta dal vaccino (positività per il solo anti-HBs), mentre i soggetti ultrasessantenni HBV+ mostrano frequentemente un quadro di positività isolata per anti-HBc, generalmente correlato ad un'infezione pregressa, ma in alcuni casi con una potenziale infettività.

127a

### DIAGNOSI DI INFEZIONE DA METAPNEUMO VIRUS MEDIANTE RICERCA DI ANTIGENE E PCR REAL TIME.

Lunghi G., Orlandi A., Mascheroni E., Zoccoli A., Melotti S.; Picicco D., Bonamore R., Torresani E.

Laboratorio di Virologia - Fondazione IRCCS Policlinico, Mangiagalli, Regina Elena; Via Francesco Sforza 35 - 20122 Milano

**Introduzione.** Le infezioni acute del tratto respiratorio (ARTI), per la maggioranza ad eziologia virale, sono tra le

principali cause di morbidità e mortalità in età pediatrica. Recentemente sono stati identificati diversi nuovi virus associati ad ARTI, tra cui Metapneumo virus, (HMPV), Corona virus (HCoV) NL63, Polioma virus KI WU, Rhino virus HRV-QPM.

Tra questi, HMPV (famiglia Paramixoviridae) individuato per la prima volta in Olanda nel 2001 è il più studiato. L'infezione da HMPV interessa oltre il 90% dei bambini in età compresa tra 5 e 10 anni con sintomatologia di varia gravità fino a bronchiolite e polmonite; colpisce inoltre soggetti anziani in comunità e immunodepressi.

Scopo del nostro lavoro è stata la valutazione di un nuovo kit per la ricerca dell'Antigene HMPV con metodica EIA in confronto con la PCR Real Time.

**Metodi.** Sono stati valutati 88 campioni di aspirato nasofaringeo di bambini (1-8 anni) afferiti al Pronto Soccorso Pediatrico della Fondazione Policlinico, Ma.Re Milano nel periodo febbraio-aprile 2007 e valutati per la presenza di RSV, Influenza A e B, Adenovirus.

Per la ricerca dell'Antigene in si è utilizzato il kit Human Metapneumovirus EIA (Biotrin, Dublin) mentre la PCR Real Time è stata condotta con il kit ProHMPV (Prodesse Rotterdam).

**Risultati.** 6/88 (6,8%) campioni sono risultati positivi per la ricerca dell'Ag HMPV con metodica EIA e con metodica PCR Real Time. Uno dei campioni risultati positivi per HMPV presentava contemporanea infezione da RSV. Peraltro 16/88 (18,2%) campioni risultavano positivi per RSV, 1/88 (1,1%) per Influenza B e 4/88 (4,5%) per Adenovirus.

**Conclusioni.** La percentuale di positività riscontrata, 6,8, per HMPV in periodo tardo epidemico è coerente con i dati di letteratura e ci incoraggia ad introdurre HMPV nella routine della diagnostica dei virus respiratori. Il kit per la ricerca dell'Ag HMPV EIA da noi valutato ha dimostrato ottima sensibilità e specificità e costituisce una valida alternativa alle metodiche di biologia molecolare.

127b

### SIEROPREVALENZA DI ANTICORPI ANTI VZV IN UNA POPOLAZIONE DI PUERPERE.

Lunghi G., Melotti S., Orlandi A., Mascheroni E., Zoccoli A., Picicco D., Bonamore R., Beltrami B., Melchionna C., Torresani E.

Laboratorio di Virologia - Fondazione IRCCS Policlinico, Mangiagalli, Regina Elena; Via Francesco Sforza 35 - 20122 Milano

**Introduzione.** L'infezione da Varicella-Zoster virus (VZV), generalmente benigna, può causare complicanze sia in soggetti immunocompromessi che sani. La gravidanza, in particolare, è un periodo ad elevato rischio in quanto l'infezione contratta durante le prime 20 settimane di gestazione può causare, seppure in piccola percentuale, embriopatia, mentre nel terzo trimestre può associarsi a maggior severità della patologia materna e del neonato.

Nei paesi a clima temperato, circa il 95-98% dei soggetti in età compresa tra i 20-30 anni è sieropositivo per VZV, mentre nei paesi a clima tropicale la percentuale, nella medesima classe di età è significativamente più bassa, 75-85%.

Scopo di questo lavoro è stato lo studio della prevalenza di anticorpi anti VZV in una popolazione di 382 puerpere (età compresa tra 20 e 45 anni) afferenti al Reparto di Ostetricia

della Clinica Mangiagalli della Fondazione Policlinico, Ma.Re, al fine di valutare la suscettibilità al virus VZV in età fertile.

**Metodi.** La ricerca di IgG anti VZV è stata condotta con il kit Liaison VZV IgG Diasorin (Saluggia).

**Risultati.** Dei 382 campioni saggiati, 28 pari al 7.3% sono risultati negativi.

È interessante notare, tuttavia, che la percentuale di suscettibilità al VZV è pari al 6.8% tra le puerpere di origine italiana e pari al 9.7% tra le puerpere di origine extracomunitaria. Valutando la presenza di anticorpi anti VZV in base all'anno di nascita è possibile evidenziare un incremento della suscettibilità nelle classi di età più giovane.

**Conclusioni.** Questi dati preliminari sembrano supportare l'importanza di un'eventuale offerta vaccinale in età adolescenziale o alle donne suscettibili in età fertile per scongiurare il rischio delle complicanze materno-fetali dovute alla varicella in gravidanza.

## 128

### VALUTAZIONE DI DUE TEST REAL-TIME-PCR PER CMV-DNA ASSOCIATI AD ESTRAZIONE AUTOMATICA DEL DNA DA SANGUE INTERO

Varetto S.; Pittaluga F.; Giliberto G.; Mantelli S.; Cerutti F.; Alice T.; Ghisetti V.

*S.C. Microbiologia, Azienda Ospedaliera S. Giovanni Battista di Torino, c.so Bramante 88/90 - 10126 Torino*

**Introduzione.** La terapia precoce ed il monitoraggio dell'infezione da CMV ha permesso di diminuirne la morbilità e la gravità. I recenti metodi di real-time-PCR offrono una quantizzazione in tempi rapidi con range dinamico più ampio dei tradizionali metodi end-point. Manca però una standardizzazione della matrice biologica di partenza e del metodo di estrazione del DNA.

Lo scopo del lavoro è stato di confrontare due sistemi basati sulla tecnologia real-time-PCR (Artus, Qiagen, Mi, CMV-Q, Nanogen, To) per CMV-DNA entrambi applicati a sangue intero (200 ul) mediante estrazione completamente automatizzata condotta su BioRobot MDx (Qiagen, Mi).

**Metodi.** Un gruppo di 37 campioni di sangue intero provenienti da un gruppo più ampio di 397 campioni da 48 pazienti con infezione asintomatica da CMV. In precedenza già analizzati per CMV DNA con real-time-PCR Q-CMV-Nanogen e pp65-antigenemia, sono stati analizzati con il metodo Artus-Qiagen. Un pannello di proficiency (0, 500, 5000, 50000, 500000 copie/ml di CMV-DNA, Acrometrix, US) è stato usato per valutare sensibilità e riproducibilità dei test.

**Risultati.** Con il pannello di proficiency la correlazione tra valori attesi e osservati è stata ottima per entrambi i kit ( $r=0,999$ ) con sensibilità migliore per il Kit-Qiagen rispetto a quello Nanogen (100% e 50% alla concentrazione 500 copie/ml, rispettivamente, CV% inter-assay su tutti gli standard <60% e <40%). Per valori di antigenemia corrispondenti a 0, 1-10, 11-20, 21-50, e  $\geq 51$  cellule pp65 positive /200.000 leucociti, la mediana dei valori di CMV-DNA ottenuti con il kit-Qiagen è stata di 3,3; 3,5; 4,6; e 5,5  $\log_{10}/ml$  (kit-Nanogen: 3,7; 3,9; 4,6 e 5,6). La correlazione tra i 2 test è stata di 0,955.

**Conclusione.** La determinazione di CMV-DNA da sangue

intero mediante i due sistemi commerciali di real-time PCR è risultata riproducibile e sensibile, con un'ottima correlazione, semplificando e accelerando il processo di quantizzazione di CMV-DNA per scopi clinico-terapeutici.

## 129

### USO DEL TEST DI GENOTIPIZZAZIONE IN PAZIENTI HBV-DNA POSITIVI IN FALLIMENTO TERAPEUTICO

Caligiuri P., Buzzone B., Ventura A., Riccio C., Maglio A., Icardi G.

*Dipartimento di Scienze della Salute, Università di Genova*

**Introduzione.** In Italia i farmaci approvati per il trattamento dell'epatite B cronica sono l'interferone alfa (IFN- $\alpha$ ), due analoghi nucleosidici sintetici Lamivudina e Entecavir e un analogo nucleotidico sintetico, l'Adefovir Dipivoxil; altri farmaci sono ancora in fase di sperimentazione clinica. La risposta all'interferone è inferiore al 40% ed associata a diversi effetti collaterali, mentre la monoterapia con gli antivirali determina a lungo termine farmaco-resistenza. Scopo del nostro studio è stato quello di valutare la prevalenza delle mutazioni associate a resistenza in pazienti HBV-DNA positivi in fallimento terapeutico.

**Metodi.** Nel nostro studio sono stati arruolati 54 pazienti, 49/54 trattati con Lamivudina e 5/54 in terapia combinata con Lamivudina ed Adefovir. Tutti i campioni sono stati sequenziati con il kit Trugene HBV Genotyping (Bayer-HealthCare), capace di identificare le mutazioni, localizzate nei domini B, C (YMDD) e D della regione POL/RT, che conferiscono resistenza ai tre farmaci antivirali.

**Risultati.** 34/54 (63%) sequenze analizzate presentavano mutazioni conferenti resistenza alla Lamivudina, di queste 15/34 (44%) la mutazione M204V/I, 15/34 (44%) la M204V e la L180M e infine 4/34 (12%) le mutazioni V173L, M204V e L180M. Solo 1 paziente tra i cinque trattati con 3TC e ADF ha sviluppato oltre alle mutazioni V173L, M204V e L180M, la mutazione L181V/T, che conferisce resistenza all'Adefovir.

Il genotipo D (47/54-87%) è risultato quello prevalente, seguito dal genotipo A (4/54-7.4%), E (1/54-1.86%), G (1/54-1.86%) ed F (1/54-1.86%).

**Conclusioni.** I risultati ottenuti mostrano che durante il trattamento dell'infezione cronica da HBV con i farmaci attualmente disponibili, si assiste, inevitabilmente alla comparsa di mutazioni farmaco-resistenti come avviene nell'infezione da HIV. Risulta quindi importante la disponibilità, nei pazienti in fallimento virologico, di nuove molecole in grado di inibire la replicazione virale dei ceppi resistenti ai farmaci finora disponibili. Inoltre, diventa indispensabile continuare a monitorare la comparsa di nuove mutazioni attraverso l'uso della genotipizzazione virale.