

087

### CONFRONTO TRA DUE DOSAGGI IN REAL-TIME PER LA DETERMINAZIONE QUANTITATIVA DI HCV-RNA

<sup>1</sup>Ciotti M., <sup>1</sup>Marcuccilli F., <sup>1</sup>Guenci T., <sup>1</sup>Perno C-F.

<sup>1</sup>Laboratorio di Virologia molecolare, Policlinico Tor Vergata, Viale Oxford, 81 - 00133 Roma.

**Introduzione.** Abbiamo effettuato un confronto tra due dosaggi quantitativi di HCV-RNA basati su amplificazione del target in fase omogenea e utilizzo di sonde fluorescenti: Roche COBAS Ampliprep-COBAS TaqMan (CAP-CTM) e Abbott Real-Time HCV-RNA. Entrambi i dosaggi prevedono l'estrazione automatica dell'RNA virale per affinità con microparticelle magnetiche. I test hanno range dinamico paragonabile (Abbott:  $12-1,0 \times 10^8$  UI/mL; Roche:  $15-6,9 \times 10^7$  UI/mL). Mentre il test Roche si basa su tecnologia TaqMan, il test Abbott non dipende dall'attività esonucleasica della polimerasi, consentendo di introdurre un passaggio di ibridizzazione e lettura a temperatura inferiore. In teoria, verrebbe così neutralizzato l'effetto di eventuali "mismatches" presenti nella regione di ibridizzazione del probe, garantendo una quantificazione indipendente dal genotipo. **Metodi.** Sono stati analizzati con entrambi i test 112 campioni retrospettivi da pazienti con infezione da HCV. **Risultati.** Per i 102 campioni quantificabili con entrambi i metodi, l'equazione della retta di regressione lineare ( $y$ =Abbott,  $x$ =Roche) era  $y=1,013x-0,778$ , con coefficiente di correlazione  $r=0,9718$ . L'analisi di Bland-Altman mostrava una differenza media (Abbott-Roche) pari a  $-0,70$  log UI/mL (mediana =  $-0,72$  log; DS =  $0,26$  log). 6 campioni erano negativi con entrambi i metodi; 2 campioni con risultato Roche  $<15$  UI/mL e target rilevato, erano negativi con Abbott; un campione con risultato Roche  $<15$  UI/mL e target rilevato, mostrava un valore di 612 UI/mL con il test Abbott.

**Conclusioni.** I due dosaggi hanno mostrato eccellente correlazione ed elevata concordanza qualitativa. La sensibilità dei test appare equivalente. Nonostante siano entrambi espressi in Unità Internazionali, i risultati dei due metodi non sembrano confrontabili. Le differenze potrebbero essere dovute o a fattori pre-analitici non meglio identificati o, come appare più probabile, a un differente processo di standardizzazione delle aziende produttrici.

088

### VALUTAZIONE QUANTITATIVA DI HIV RNA CON IL SISTEMA NUCLISENS EASYQ HIV-I E CORRELAZIONE CON VERSANT HIV -I (bDNA)

Colao M.G., Capobianco T., Mazzarelli G., Parri F.

Laboratorio di Sieroinmunologia, Azienda Ospedaliera Universitaria Careggi, Firenze

**Introduzione.** Il monitoraggio e la determinazione della carica virale in pazienti HIV positivi sono considerati importanti marcatori prognostici per seguire l'evoluzione clinica del paziente sieropositivo.

Nel presente studio, su campioni di routine, sono state valutate le performance del sistema NucliSens EasyQ HIV-1 (BioMerieux) che combina l'amplificazione NASBA con una rilevazione Real-Time con sonde molecular beacons, ed è stata eseguita una analisi di comparazione dei risultati ottenuti con il sistema Versant HIV-1 (Bayer) basato su un'amplificazione del segnale (bDNA).

**Materiali e Metodi.** Metodiche utilizzate:

- NucliSens EasyQ HIV-1 v.1.1 previa estrazione su easyMAG
- Versant HIV-1 RNA v.3.0.

174 campioni di plasma di pazienti con HIV/AIDS, in diversi regimi di trattamento HAART, sono stati analizzati con i due metodi allo scopo di valutarne la correlazione.

Per NucliSens EasyQ HIV-1 è stata valutata la riproducibilità intra-run, mediante saggi ripetuti 5 volte su 4 campioni, e la linearità su 4 campioni diluiti 1:10, 1:100, 1:1000.

**Risultati.** Sui 174 campioni confrontati, la concordanza è stata del 94,8%:

- 79 sono risultati positivi e 86 al di sotto della soglia di sensibilità con entrambe le metodiche
- 9 sono risultati discordanti: 5 positivi con bDNA e inferiori alla soglia con Real-Time; 4 inferiori alla soglia con bDNA e positivi con Real-Time.

Il coefficiente di correlazione  $R^2$ , sui 79 campioni positivi, è risultato essere 0.84.

La valutazione della riproducibilità sui 4 campioni ha dato i seguenti valori di media e deviazione standard:  $3,62 \pm 0,11$ ,  $3,61 \pm 0,10$ ,  $4,71 \pm 0,14$ ,  $4,83 \pm 0,21$ .

La linearità è stata dimostrata sui 4 campioni con buoni risultati.

**Conclusioni.** La metodica NucliSens EasyQ è risultata soddisfacente per la sovrapponibilità dei risultati con il sistema precedentemente utilizzato nel nostro Laboratorio (Versant bDNA). La combinazione di NucliSens con easyMAG permette di testare 48 campioni in quattro ore. Il vantaggio di una rivelazione Real-Time, con possibilità di valutare la carica virale su un ampio range dinamico, è associato ad un'alta produttività, una buona performance, nonché ad un facile utilizzo della strumentazione dotata di un software intuitivo.

089

### ANTICORPI NON-ORGANO-SPECIFICI E INFEZIONE DA BKV IN UNA POPOLAZIONE DI TRAPIANTATI RENALI

<sup>1</sup>Costa C., <sup>1</sup>Bergallo M., <sup>2</sup>Touscoz G.A., <sup>1</sup>Sinesi F., <sup>1</sup>Merlino C., <sup>1</sup>Re D., <sup>3</sup>Giacchino F., <sup>3</sup>Segoloni G. P., <sup>1</sup>Cavallo R.

<sup>1</sup>Dipartimento di Sanità Pubblica e Microbiologia, Laboratorio di Virologia, Università di Torino;

<sup>2</sup>S.C.D.U. Epatogastroenterologia, Laboratorio di Fisiopatologia Epatica e Digestiva, Ospedale Molinette, Torino;

<sup>3</sup><sup>4</sup>Dipartimento di Medicina Interna, Unità Trapianto Rene, Ospedale Molinette, Torino.

**Introduzione.** L'infezione latente da polyomavirus BK (BKV) può riattivarsi nei soggetti immunocompromessi o con lupus erythematosus sistemico (LES). Nei trapiantati renali BKV può causare nefropatia e rigetto. BKV è stato associato a manifestazioni autoimmuni, ipotizzando un possibile ruolo nella patogenesi del LES. Anticorpi anti-dsDNA sono stati rilevati in animali da esperimento inoculati con BKV. Si ipotizza che l'espressione *in vivo* dell'antigene T

large di BKV determini la produzione di anti-dsDNA secondo un meccanismo aptene-carrier. Scopo di questo studio è di indagare la correlazione tra BKV ed autoimmunità in trapiantati renali valutando la prevalenza di anticorpi non-organ-specifici (NOSA): anti-nucleo (ANA), anti-muscolo liscio (SMA), anti-mitocondrio (AMA) ed anti-microsomi epatici e renali (LKM) mediante immunofluorescenza indiretta (IIF).

**Metodi.** Campioni sierici di 95 trapiantati renali (64 M, 31 F; età media 54.07 anni, range 19-78), raccolti nel follow-up post-trapianto (media  $\pm$  SD, 8.5  $\pm$  15.6 mesi; range 1-104), sono stati testati mediante IIF, diluiti 1:40, su sezioni criostatiche di fegato, rene e stomaco di ratto e su cellule HEP-2. L'infezione da BKV è stata valutata mediante BKV-DNA con PCR quantitativa-competitiva.

**Risultati.** NOSA erano presenti in 25 su 95 (26.3%) pazienti: 18 ANA e 6 SMA. Un paziente era positivo sia per ANA sia per SMA. Nessun paziente era positivo per AMA o LKM. Il pattern ANA era omogeneo in 13 pazienti, granulare in 3, nucleolare in 2. BKV era positivo in 16 su 95 (16.8%) pazienti (carica virale, media 228530 copie/ml; range 160-1600000): 3 NOSA-positivi e 13 negativi. BKV era negativo in 79 su 95 (83.2%) pazienti: 22 NOSA positivi e 57 negativi.

**Conclusioni.** La differenza di prevalenza di NOSA tra pazienti BKV positivi e negativi non era significativa. Non sembra esistere una correlazione tra BKV e NOSA nei trapiantati renali. Ulteriori studi su campioni pre- e post-trapianto ed una popolazione più ampia potrebbero chiarire meglio questi risultati.

## 090

### NON-ORGAN-SPECIFIC AUTOANTIBODIES IN CMV PP65-ANTIGENAEMIA-POSITIVE AND -NEGATIVE RENAL TRANSPLANT RECIPIENTS

<sup>1</sup>Costa C., <sup>1</sup>Bergallo M., <sup>2</sup>Touscoz G. A., <sup>1</sup>Sidoti F., <sup>1</sup>Merlino C., <sup>3</sup>Segoloni G.P., <sup>4</sup>Giacchino F., <sup>1</sup>Cavallo R..

<sup>1</sup>Department of Public Health and Microbiology, Virology Unit, University of Turin.

<sup>2</sup>S.C.D.U. Gastrohepatology, Laboratory of Digestive and Hepatic Pathophysiology, Molinette Hospital, Turin.

<sup>3</sup>Department of Internal Medicine, Renal Transplant Unit, Molinette Hospital, Turin.

<sup>4</sup> Nephrology Unit, Ivrea Hospital, Italy

**Introduction.** A relation between CMV and non-organ-specific antibodies (NOSA) has been reported, hypothesizing a role in the development of rejection in transplant recipients.

**Objectives.** to investigate presence of NOSA (antinuclear [ANA], anti-smooth muscle [SMA], anti-mitochondrial [AMA], anti-liver-kidney-microsomal [LKM] antibodies), relation to CMV infection and development of acute rejection in renal transplant recipients.

**Methods.** NOSAs were evaluated in 132 serum samples, from 59 patients (39 M, 20 F; mean age 53.5 years, range 19-78), collected at the time of transplant and during the follow-up post-transplantation (median 35 days, range 4-630) by indirect immunofluorescence on sections of rat liver, kidney and stomach, and on HEP-2 cell lines. CMV infection was evaluated by pp65-antigenaemia.

**Results.** NOSAs were positive in 26 of 132 (19.7%) samples obtained from 15 patients: ANA, SMA and LKM were pre-

sent, respectively, in 21, 5 and 1 case (one sample positive for both ANA and SMA): 17 antigenaemia-negative and 9 antigenaemia-positive ( $p = n.s.$ ). None was positive for AMA. Pp-65 antigenaemia was positive in 36 samples (27.2%; number of pp-65-positive cells/200.000 PMN: 1-50 in 27, >50 in 9): 9 NOSA-positive and 27 NOSA-negative ( $p = n.s.$ ). Acute rejection developed in 8 patients: 3/36 pp65-positive cases vs 5/96 pp65-negative cases ( $p = n.s.$ ) and in 4/26 NOSA-positive cases vs 4/102 NOSA-negative cases ( $p = 0.07$ ,  $n.s.$ ).

**Conclusions.** It doesn't seem to exist a relation between CMV infection, NOSAs and acute rejection in renal transplant recipients. Nevertheless, the development of acute rejection tended to be more frequent in NOSA-positive patients.

## 091

### DISTRIBUZIONE DEI GENOTIPI DI HBV NELL'AREA NOVARESE

Crobu M.G., Ravanini P., Nicosia A.M., Grossini E., Cagliano M., Fonio P., Fortina G.

Azienda "Ospedale Maggiore della Carità" - Novara - Laboratorio Microbiologia e Virologia

**Introduzioni.** Si conoscono almeno 8 genotipi principali di HBV, classificati con le lettere da A a H. La distribuzione geografica di questi genotipi è molto caratteristica. Nelle regioni mediterranee prevale nettamente il genotipo D.

Studi recenti hanno indicato come il genotipo virale influisca grandemente sul decorso della malattia epatica: il genotipo A è associato a lenta progressione, mentre i genotipi C e G sono associati a maggiore rapidità di evoluzione verso la cirrosi. Il genotipo D è associato a maggiore gravità della patologia epatica, se comparato con i genotipi A e C, e ancor più se comparato con il genotipo B.

Altri studi hanno invece associato il genotipo con la risposta ai trattamenti antivirali. Da queste indicazioni emerge una migliore risposta dei genotipi A e B all'Interferone, se confrontati con i genotipi C e D, che invece presentano una scarsa risposta a questo tipo di trattamento.

La conoscenza del genotipo virale potrebbe quindi essere utile clinicamente per poter decidere correttamente quale tipo di trattamento intraprendere, sempre in considerazione degli altri parametri clinici.

**Metodi.** In questo studio abbiamo voluto valutare la distribuzione dei genotipi di HBV nell'area afferente all'ospedale di Novara, allo scopo di verificare se il genotipo D sia l'unico presente o se vi sia una consistente presenza anche di altri genotipi virali.

**Risultati.** Tra i 120 casi di pazienti HBV cronici, abbiamo riscontrato 98 genotipi D (pari all'81%), e 22 genotipi non-D (pari al 19%). Tra questi ultimi il genotipo prevalente è risultato il genotipo A (18 casi - 15% del totale), seguito dal genotipo E (3 casi), e dal genotipo C (1 caso).

Questi risultati indicano come nella nostra regione vi sia una elevata prevalenza di genotipo D, come previsto, ma anche una consistente presenza di genotipo A, considerato più sensibile all'Interferone. La ricerca del genotipo virale di HBV potrebbe quindi essere utile al clinico per la corretta scelta terapeutica, anche nelle nostre regioni geografiche.