

124

PREVALENZA DI HDV IN UNA POPOLAZIONE CALABRESE DI PORTATORI CRONICI DI HBsAg

Tenuta R., Greco F., Noto A., Palermo M., Perugini D., Savino O., Giraldo C.

Virologia Ospedale, Annunziata AO Cosenza

Introduzione. Radjef ipotizza che nel mondo siano coinfectate con HDV circa 20.000.000 persone, partendo dal presupposto che a livello mondiale, sono presenti 460.000.000 persone affette da infezione cronica HBV correlata; scopo del nostro lavoro è stato quello di valutare la prevalenza di HDV in una popolazione calabrese di portatori cronici di HBsAg.

Materiali e Metodi. E' stata determinata la presenza di IgG e IgM anti HDV in 215 campioni, provenienti dalla nostra banca di campioni e riferiti esclusivamente al periodo gennaio-dicembre 2005, tutti appartenenti ad una popolazione HBsAg positiva. Il 32% di questi campioni, proveniva da pazienti con epatite cronica HBV correlata; il restante di questi apparteneva a soggetti apparentemente sani. Su tutti i 215 campioni, sono stati eseguiti: AST, ALT, HBsAg, HBe Ab/Ag, HBcAb (Abbott), IgG e IgM anti HDV (Sorin), HBVDNA quantitativo (Real Time ROCHE e/o bDNA Bayer).

Risultati. I campioni esaminati, provenivano per il 32% da pazienti con epatite cronica HBeAb positiva, ipertransaminemia e con HBVDNAemia, il restante 68% dei soggetti presentano transaminasi nella norma e HBVDNAemia positiva/negativa. Su tutti i campioni abbiamo riscontrato i seguenti pattern: n. 5 campioni IgG anti-HDV positivi e IgM anti-HDV negativi e n.10 campioni IgG e IgM anti-HDV positivi. La prevalenza nella nostra popolazione, di portatori cronici di HBsAg risulta essere pari al 7%.

Conclusioni. Nel 2006, nonostante la vaccinazione obbligatoria nei confronti di HBV, la prevalenza nella nostra regione dell'infezione da HBV risulta essere ancora alta, con circolazione del virus delta, pari al 7%, soprattutto nelle popolazioni a rischio.

125

GENOTIPIZZAZIONE DI HCV: CONFRONTO TRA UN NUOVO TEST IN REAL-TIME PCR E UN TEST DI IBRIDAZIONE SU FASE SOLIDA

Rossi A.¹, Bassani A.¹, Berrone A.¹, Baj A.¹, Pulvirenti F.R.², Toniolo A.Q.¹

¹Laboratorio di Microbiologia e Virologia, Università dell'Insubria e Ospedale di Circolo e Fondazione Macchi, Varese;

²Abbott Molecular, Roma

Introduzione. La genotipizzazione di HCV è utile a prevedere la risposta alla terapia, modulare la durata del trattamento e formulare vaccini protettivi. A scopo clinico è sufficiente determinare il tipo virale. E' anche interessante distinguere i sottotipi 1a e 1b per i possibili riflessi sulla progressione e gravità della malattia. L'ibridazione su membrana dei

prodotti di amplificazione è il metodo diagnostico più diffuso (LiPA HCV, Bayer). Abbiamo confrontato con il LiPA HCV test un nuovo metodo di tipizzazione in real-time PCR (HCV Genotyping ASR, Abbott-Celera) che, partendo da RNA estratto in maniera manuale o automatizzata, identifica i genotipi virali 1a, 1b, 2a, 2b, 3, 4 e 5 mediante tre reazioni multiplex che utilizzano sonde TaqMan. Il test riconosce due regioni genomiche: NS5 per discriminare i sottotipi 1a e 1b e 5'UTR per gli altri tipi e sottotipi.

Metodi. Si sono analizzati campioni di siero di 72 pazienti con infezione cronica da HCV conservati a -70°C.

Risultati. Il metodo real time PCR ha assegnato il tipo/sottotipo in 71 dei 72 campioni (1 indeterminato). La concordanza di tipo è risultata del 98,6%. Il campione discordante è risultato di tipo 4 con il metodo in real-time PCR e di tipo 1 con il metodo LiPA. Su 16 campioni identificati come tipo 1 dal LiPA, la real-time PCR ha assegnato anche il sottotipo (1a, 14 campioni; 1b, 2 campioni). Cinque campioni sono risultati discordanti per il sottotipo (1a, real-time PCR; 1b, LiPA). Un campione con infezione mista (1+4) è stato identificato da entrambi i metodi.

Conclusioni. La real time PCR ha mostrato alta concordanza con il test LiPA per l'identificazione del tipo virale. Il target NS5 appare affidabile per distinguere i sottotipi 1a e 1b. Il metodo sembra anche capace di identificare le infezioni miste.

126

VALUTAZIONE DI UN SISTEMA IN PCR REAL-TIME APPLICATO ALLO SCREENING TRASFUSIONALE PER HCV, HIV-1/HIV-2 E HBV

Ursitti A., Schiavone M.L., De Angelis A., Luciani A.R., Panecaldo I., Spanò A.

Servizio di Microbiologia, Virologia, Immunologia Ospedale S. Pertini ASL RMB - Centro di riferimento per la Sicurezza Trasfusionale della Regione Lazio.

Premessa. Scopo del lavoro è stato quello di valutare le prestazioni di un sistema automatico di screening per HCV, HBV, e HIV attraverso tecnologia degli acidi nucleici (NAT) relativamente ai parametri di sensibilità, specificità, accuratezza diagnostica e caratteristiche d'impiego della nuova piattaforma analitica rispetto alla strumentazione in uso presso il nostro centro.

Metodi. Il sistema valutato è il Cobas s201 (Roche Molecular System, Branchburg, NJ,US), costituito da un modulo per l'esecuzione del pooling (Hamilton Microlab STAR), dalla componente per l'estrazione degli acidi nucleici (Cobas AmpliPrep), e dall'analizzatore (Cobas TaqMan) per l'amplificazione/rivelazione con tecnologia PCR Real-time. I reattivi TaqScreen multiplex utilizzati consentono la rivelazione contemporanea di 5 analiti: HCV, HIV-1 gruppo M, HIV-1 gruppo O, HIV-2 ed HBV. Sono state effettuate le seguenti valutazioni: 1. qualifica dell'operatore, utilizzando 4 pannelli Acrometrix da 6 membri (11 positivi e 13 negativi); 2. riproducibilità, impiegando 4 pannelli Acrometrix da 6 membri (20 positivi e 4 negativi); 3. sensibilità, attraverso diluizioni a differenti concentrazioni allestite da 3 standard WHO HCV, HBV e HIV-1; 4. studio dei donatori, effettuato su 2018 donazioni random, in minipool costituiti da 6 campioni (le stesse dona-

zioni sono state testate in parallelo e simultaneamente con il sistema in uso Cobas Ampliscreen Roche).

Risultati. I risultati dei pannelli Acrometrix utilizzati per la qualifica dell'operatore e per lo studio di riproducibilità sono stati quelli attesi. I valori soglia 95% per i tre marcatori virologici sono stati i seguenti: HCV 9.2 UI/mL (7.1-13.5) HBV 1.5 UI/mL (1.2-2.5) HIV-1 53.2 UI/mL (30.1-132.1). Su tutti i donatori è stata osservata assoluta corrispondenza tra i due sistemi analitici, concordanti con i risultati dei test sierologici di screening.

Discussione. La nuova piattaforma analitica s201 presenta una elevata sensibilità, specificità, riproducibilità, robustezza e totale automazione. La semplicità di esecuzione, l'elevata processività analitica e la standardizzazione di tutte le fasi analitiche, si ripercuotono favorevolmente sull'organizzazione del lavoro e sulla gestione delle risorse umane.

127

EPIDEMIOLOGIA E ANTIBIOTICO RESISTENZA: COLLOQUIO TRA IL LABORATORIO DI MICROBIOLOGIA E I MEDICI DI MEDICINA GENERALE VIA INTERNET

Casari E., Ferrario A., Lagioia M., Montanelli A.

*Unità di Microbiologia, Direzione Medico Sanitaria
IRCCS Istituto Clinico Humanitas, via Manzoni 56,
20089 Rozzano (Milano)*

La riduzione dei giorni di degenza dei pazienti nelle strutture sanitarie (dimissioni precoci) carica sul medico di base la gestione di complicità infettivologiche che una volta erano di pura pertinenza del medico ospedaliero.

I dati epidemiologici di chemioantibiotico resistenza dei ceppi batterici provenienti dai pazienti ambulatoriali mostrano di fatto lo svilupparsi di "particolari resistenze". In virtù di queste modificazioni del panorama infettivologico abbiamo pensato di mettere a disposizione del medico di base, attraverso Internet ed in particolare nel sito dell'Istituto, i dati epidemiologici del nostro territorio insieme ad alcuni suggerimenti operativi.

In particolare: i microrganismi riscontrati con una significativa frequenza, la posologia e le modalità di somministrazione degli antimicrobici in base alla loro disponibilità nell'antibiogramma ed inoltre il profilo di chemioantibiotico resistenza per i germi riscontrati con maggiore frequenza nei distretti urinario e faringeo.

Inoltre si è pensato di attivare una casella di posta elettronica per facilitare un dialogo su quesiti specifici fra il medico di medicina generale e lo specialista infettivologo. Con una cadenza semestrale i dati epidemiologici vengono esportati dal programma di gestione dei dati microbiologici Epicenter (Becton Dickinson, Biosciences, Sparks, Md.) e immessi direttamente nel sito in modo da rendere automatico l'aggiornamento.

La veste iconografica scelta è stata un grafico a torta per quanto riguarda la frequenza dei microrganismi isolati nelle urine e un istogramma a barre per le percentuali di sensibilità dei batteri agli antimicrobici.

In dettaglio: i microrganismi isolati nelle urine nei primi 5 mesi del 2006 dei pazienti ambulatoriali sono stati in totale 530 di cui nel 54.5 % dei casi si trattava di

Escherichia coli, nel 7,9 % Streptococcus agalactiae, nel 7,7 % Proteus mirabilis, nel 4,7 % Enterococcus faecalis e nel 4,7 % Klebsiella pneumoniae. I restanti microrganismi sono stati riscontrati in una percentuale inferiore al 2%.

L'Escherichia coli è risultata sensibile all'acido nalidixico nell'80% dei casi, alla levofloxacina nell'85%, alla nitrofurantoina nel 99%, alla norfloxacina nell'85% ed al trimetoprim-sulfametossazolo nel 75%.

Per quanto riguarda gli isolamenti del distretto faringeo i 38 ceppi di Streptococcus pyogenes sono risultati resistenti all'eritromicina nel 30% dei casi.

128

UTILIZZO DI TABELLE STANDARD NELLA GESTIONE DEL LABORATORIO DI MICROBIOLOGIA

Rizzo C., Dell'Aquila L., Ceci G., Battista M.,
De Pascale G., Coscia MF., Monno R., De Vito D, Rizzo G.

*U.O. Igiene Epidemiologia Sanità Pubblica I,
P.zza G. Cesare 11 - 70124, Bari.*

Introduzione. L'U.O. Igiene Epidemiologia Sanità Pubblica I, dell'A.O. Policlinico Bari dovendo installare un nuovo sistema gestionale del laboratorio di microbiologia ha voluto testare l'utilizzo delle tabelle standard proposte dal gruppo di lavoro del progetto Micronet promosso dall'Istituto Superiore di Sanità in collaborazione con l'AMCLI. L'uso di tabelle standard per la gestione del laboratorio di microbiologia rappresenta quindi una opportunità per la creazione di network regionali basati sui laboratori di microbiologia finalizzati alla raccolta e confronto dei dati a livello regionale che nazionale.

Metodi. Sono state utilizzate le tabelle Micronet nella versione 07. Sebbene esse siano ancora in una fase di sviluppo e in fase di test anche per l'esportazione dei dati, esse sono state utilizzate come base per la configurazione del software gestionale DNLab (Italnoema, Roma) installato presso il Policlinico di Bari nel Giugno 2006. Sono stati misurati gli indicatori per la valutazione (accettabilità e funzionalità e flessibilità) del sistema gestionale attraverso un questionario, con scala di Lickert, somministrato all'inizio e dopo 30gg dall'installazione del sistema al personale del laboratorio (medico, biologo e tecnici di laboratorio).

Al laboratorio afferiscono ogni mese circa 3.500 richieste, provenienti sia dalla ASL Ba/4 (500.000 assistiti) che dai 1.100 posti letto dell'Azienda Ospedaliera.

Risultati. I questionari sono stati distribuiti ad un totale di 17 persone (9 tra medici e biologi e 8 tecnici di laboratorio). L'accettabilità al tempo 0 riguardo il cambiamento del sistema gestionale verso un sistema che utilizza tabelle standard è risultata buona per tutti gli indicatori valutati. Sono in corso di analisi i questionari del follow-up a 30 gg.

Conclusioni. Tale indagine permette riflessioni sull'uso di tabelle standard mirate soprattutto alla condivisione e trasmissione di dati di microbiologia ma che si prestano anche agli aspetti organizzativi e gestionali quotidiani del laboratorio stesso.