

098

DIAGNOSI DI INFEZIONE DA HPV: PCR NESTED E SEQUENZIAMENTO DIRETTO vs DIGENE HYBRID CAPTURE® 2 (HC2).

Longo R.¹, Cappiello G.¹, Schiavone M.L.¹, Visca M.¹,
Ursitti A.¹, Romano S.¹, Pontani G.², Spanò A.¹

¹U.O.C. Microbiologia Virologia e Immunologia
Ospedale S. Pertini - Roma,

²U.O. Citodiagnostica ASL RM-B

Premessa. Benché gli HPV ad alto rischio oncogeno siano gli agenti eziologici maggiormente implicati nella cancerogenesi cervicale, l'acquisizione di dati epidemiologici riguardanti genotipi di nuova scoperta, rari e/o di incerta classificazione rende auspicabile poter diagnosticare le infezioni sostenute da tutti i genotipi virali.

Obiettivo. Valutare le performance di una PCR *home-made* rispetto ad un test commerciale (HC2®, Digene) basato sull'ibridazione diretta in fase liquida per la diagnosi d'infezione e la tipizzazione virale.

Materiali e metodi. Ciascun campione (cellule esfoliate dalla cervice uterina raccolte e conservate nel terreno liquido Surepath™) era sottoposto sia al HC2 sia ad una PCR nested (nPCR), previa estrazione del DNA (QIAGEN), utilizzando i primer My09/My11 e GP5+/6+ per la regione genomica codificante la proteina capsidica L1; la positività in PCR era seguita dal sequenziamento diretto.

Risultati. Su 103 campioni analizzati, 51 (49,5%) erano positivi ad almeno un test: 30 erano positivi al HC2 e 50 alla nPCR. 29 campioni erano positivi concordanti ad entrambi i test; di questi, 9 erano discordanti riguardo alla tipizzazione. 21 campioni erano positivi alla nPCR e negativi al HC2; di questi, 9 erano genotipi ad alto rischio (16,18,31,39,52,53). Un campione era negativo alla nPCR e positivo al HC2.

Discussione. L'utilizzo di primer noti per la capacità di individuare uno spettro ampio di genotipi permette di diagnosticare infezioni ad alto/basso/incerto rischio oncogeno laddove il test HC2 darebbe risultati falsi negativi.

L'HC2 non prevede come target genotipi di frequente riscontro nella popolazione italiana (53,66,54,70,73).

E' noto che alcune sonde possono cross-ibridare con genotipi non specificamente rilevabili con l'HC2 (53,66,70) ma ciò potrebbe incidere negativamente sul limite di sensibilità del metodo.

Tale cross-ibridazione può inoltre generare errori di tipizzazione.

Benché il sequenziamento diretto non permetta di evidenziare tutte le coinfezioni, la nPCR sembra avere una sensibilità e una specificità più elevate rispetto al HC2.