

comunicazioni orali

SESSIONE 9

Bioteχνologie emergenti nella diagnostica microbiologica e virologica

Venerdì 11 giugno 2004, 9.00-13.00, Sala F

CO9.1

ANALISI DELL'INTEGRAZIONE DEL DNA DI HPV16 IN CAMPIONI CERVICALI MEDIANTE PCR QUALITATIVA E QUANTITATIVA

Cricca M., Venturoli S., Ambretti S., Bonvicini F., Gallinella G., Musiani M., Zerbini M.

Dipartimento di Medicina Clinica, Specialistica e Sperimentale - Divisione di Microbiologia, Università di Bologna, Via Massarenti 9, 40138

Obiettivi:

L'integrazione del DNA di HPV16 nel genoma umano è un evento implicato nella progressione delle lesioni preneoplastiche a carcinoma cervicale invasivo. L'integrazione comporta l'interruzione delle ORF E1/E2 e la conseguente sovraespressione delle oncoproteine E6 ed E7. Studi recenti hanno dimostrato che l'integrazione non è sempre un evento tardivo nella progressione dell'infezione e che lo stato integrato dell'HPV16 in CIN di basso grado ha un valore predittivo positivo per la progressione neoplastica.

Nel presente studio sono stati allestiti saggi di PCR qualitativa per mappare le regioni delle ORF E1/E2 più frequentemente interrotte e saggi quantitativi per determinare lo stato fisico del DNA di HPV16 in lesioni cervicali di diverso grado e in carcinomi microinvasivi.

Materiali e metodi:

I campioni citologici sono stati analizzati mediante un saggio di PCR qualitativa per l'amplificazione di 4 frammenti overlapping che coprono l'intera ORF E1 e di due frammenti overlapping che coprono l'intera ORF E2.

Successivamente sono stati allestiti saggi di PCR real time per l'amplificazione di un frammento di 242 bps interno al gene E2, nella regione più frequentemente

interrotta (hinge region) e di un frammento di 130 bps interno al gene E6.

Risultati:

Il 95% dei campioni sono risultati positivi ad entrambe le ORF (E1/E2) in PCR qualitativa, mentre il 5% dei campioni sono risultati negativi per l'estremità 3' della ORF E1 e per l'intera ORF E2.

La quantificazione relativa dell'E2 rispetto all'E6 ha consentito di determinare lo stato fisico di HPV16 confermando l'integrazione del DNA nel 5% dei campioni e dimostrando la presenza di DNA virale, sia allo stato episomiale sia allo stato misto, nel rimanente 95% dei campioni.

Conclusioni:

I saggi di PCR qualitativa e quantitativa da noi messi a punto, permettono di determinare lo stato fisico e la carica virale in pazienti con infezione da HPV16, parametri questi che consentono di valutare in termini prognostici la progressione della lesione o la clearance virale.

CO9.2

TECNICA DI AMPLIFICAZIONE REAL TIME NEI TUMORI ED IN NUOVE ENTITÀ PATOLOGICHE HHV8-ASSOCIATI

Tedeschi R., Bidoli E.*, Bortolin M.T, Pratesi C., D'Andrea M., Averna P., Varaschin P., Crepaldi C., Simonelli C.°, De Paoli P.

*Unità Complessa di Microbiologia-Immunologia e Virologia, *Epidemiologia, °Oncologia Medica & AIDS, Centro di Riferimento Oncologico, IRCCS, Aviano.*

Introduzione e Scopo. HHV-8 è l'ultimo Herpesvirus, identificato nel 1994 in biopsie di pazienti AIDS con sarcoma di Kaposi (KS). Oltre al KS, è stata descritta l'associazione del virus con due distinte patologie linfoproliferative, quali Primary Effusion Lymphoma