

(PEL) e Multicentric Castleman Disease (MCD) e, di recente, con linfomi solidi associati a MCD o AIDS-KS (LS). Controverso è il ruolo di HHV8 nel Mieloma Multiplo (MM). Scopo dello studio è stato quello di valutare e confrontare la viremia HHV8 nei pazienti con diversa patologia HHV8-relata e di correlarla con altri parametri virologici (viremia EBV, HIV), sierologici (reattività anticorpale HHV8) e immunologici (conta CD4).

Materiali e Metodi.

Campioni di plasma, siero e PBMCs sono stati raccolti durante il follow-up clinico in 40 pazienti KS-AIDS, 4 KS classici, 5 PEL, 8 MCD, 4 LS (3 HIV+, 1 HIV-). Uno studio prospettico per l'insorgenza di MM (1961 soggetti con 250 casi) è anche stato valutato. La viremia HHV8 ed EBV è stata valutata con metodica real time PCR (Tedeschi et al J Clin Microbiol 2001), la viremia HIV mediante metodica b-DNA (Bayer) e la conta dei CD4 in citofluorimetria, la sierologia HHV8 in IFA.

Risultati.

Alta viremia plasmatica HHV8 era presente nei KS sia prima che durante HAART (mediana, 8998 e 12270cp/ml); i livelli di HHV8 DNA correlavano con livelli di HIV RNA (OR:5.40, 95%CI:1.54-18.98) e con la conta CD4 (OR:7.24, CI95%:1.30-40.35). Nei PEL era presente viremia HHV8 elevata allo sviluppo della malattia in 5/5 pz (mediana, 10284cp/ml) e durante il follow-up clinico (mediana, 2078cp/ml), osservando una correlazione con un progressivo calo dei CD4 ($p < 0.01$). EBV DNA era presente in 3/5 pz (mediana, 3196 cp/ml) e in 4/5 pz durante il follow-up (mediana, 598 cp/ml). Negli 8 MCD erano presenti livelli HHV8 DNA più elevati rispetto EBV DNA (mediana 4350cp/ml e 40cp/ml, rispettivamente). Le caratteristiche istologiche, virologiche e cliniche dei LS sono in corso di studio. Reattività HHV8 era presente in 7/1961 pz dello studio MM senza HHV8 viremia rilevabile.

Considerazioni Conclusive.

La determinazione molecolare di HHV8 permette di associare nuove entità patologiche a questo virus, rappresenta uno strumento utile nel follow-up clinico dei pazienti con tumori HHV8 associati e consente di studiare le interazioni patogenetiche con altri virus tumore-associati.

CO9.3

DIAGNOSTICA DIFFERENZIALE PRECOCE DEL SARS CORONAVIRUS CON METODICA MICRO-ARRAYS NELLE SINDROMI ACUTE RESPIRATORIE

Giannattasio A., *Marzo C., *Guarino C., Falco E., **De Montis A., **Lauterio C., Alterio A., **Scarpati S., *Bellitti F., Smeraglia R.**

Virologia P.O. "C. Ascalesi": Direttore Prof. Riccardo Smeraglia - A.S.L. Napoli 1,

**I Clinica Pneumologica II Università di Napoli P.O. Monaldi,*

*** BCS Biotech SpA Laboratori di Ricerca e Sviluppo Cagliari,*

****Ospedale S. Maria delle Grazie Pozzuoli (NA) - A.S.L. Napoli 2*

Lo scopo della nostra ricerca è quello di poter effettuare una tempestiva diagnosi differenziale per il SARS Coronavirus nei confronti degli altri virus (Influenza A, Influenza B, Parainfluenza 1-2-3, RSV, Adenovirus) responsabili di sindromi respiratorie acute.

Lo studio in esame è stato condotto su 12 pazienti affetti da varie patologie respiratorie, utilizzando il metodo con Micro-Arrays. Nei primi 5 pazienti la ricerca dei virus respiratori, compreso il Coronavirus SARS, è stata eseguita su: liquido di lavaggio bronco-alveolare (BAL), su broncoaspirato e su siero; nei restanti 7 pazienti l'esame è stato effettuato solo su campioni di siero.

Il metodo con Micro-Arrays, o DNA/RNA chips, è un sistema diagnostico innovativo che consente di identificare simultaneamente il genoma (o una sequenza nota) degli 8 virus potenzialmente responsabili della sindrome respiratoria acuta. La caratteristica peculiare del metodo è l'ibridizzazione del genoma virale, o parte di esso, all'interno di pozzetti di circa 2x2 cm. Tale metodica permette l'identificazione dei virus in questione dopo 1-2 giorni dall'infezione.

Dei primi 5 pazienti esaminati: 2 sono risultati positivi per RSV nel BAL e nel broncoaspirato, uno positivo per RSV nei tre liquidi biologici presi in esame, uno positivo per Influenza A nel BAL e nel broncoaspirato e uno è risultato completamente negativo. Per quanto concerne gli altri 7 sieri: 2 sono risultati positivi all'Adenovirus, uno positivo a Parainfluenza 1 e Adenovirus, uno positivo a RSV e Influenza B, uno debolmente positivo all'RSV e 2 positivi all'RSV.

I dati da noi ottenuti dimostrano che il metodo con Micro-Arrays permette di porre una rapida diagnosi differenziale per il SARS Coronavirus nei confronti degli altri virus respiratori. Ci piace sottolineare, però,

che tale metodo consente al clinico di avere una diagnosi certa di patologia respiratoria infettiva all'insorgere dei primi sintomi, da affiancare alla ricerca anticorpale (IgG, IgM, IgA) su siero.

CO9.4

CONFUTAZIONE DI RECENTI IPOTESI ETIOLOGICHE PER LA PITIRIASI ROSEA DI GIBERT

Urbano F.¹, Azzi A.², Zakzewska K.², De Santis R.², Zuccati G.³, Urbano P.²

¹ Ispettorato R.F.C. dell'Esercito, Sezione Logistica - Servizio Sanitario;

² Dipartimento di Sanità Pubblica, e

³ Dipartimento di Scienze Dermatologiche, Università di Firenze

La pitiriasi rosea di Gibert è una dermatosi infiammatoria acuta, con caratteristiche epidemiologiche, cliniche e istopatologiche tipiche. Il dato epidemiologico classico depone per la sua contagiosità. L'origine infettiva è ammessa quasi unanimemente, ma l'agente etiologico non è ancora stato identificato.

Nel 1997 è stato ipotizzato un ruolo etiopatogenetico per il parvovirus umano B19, che non ha trovato conferme da indagini sierologiche. Sempre nel 1997 sono stati considerati i virus erpetici umani 6 e 7, e sono stati ottenuti risultati suggestivi per l'implicazione di HHV7, con tecniche di biologia molecolare.

Scopo del lavoro

Verificare alcune delle ipotesi etiologiche su questa patologia relative ad agenti di recente identificazione e suscettibili di studio solo con tecniche biomolecolari avanzate: Parvovirus B19, HHV-7 e HHV-8.

Materiali e metodi

Sono stati arruolati nello studio venti militari (maschi, fra 18 e 33 anni) che hanno dato il consenso informato, di 22 presentatisi consecutivamente con forme clinicamente classiche in fase di eruzione secondaria al Reparto di Dermatologia e Venereologia del Policlinico Militare di Roma fra il Giugno del 1997 ed il Gennaio del 1998. Sono stati raccolti campioni di siero in fase acuta, 9 sieri di follow up, e dieci sieri di controlli sani.

Nested PCR per Human Herpes Virus 7 e per Human Herpes Virus 8, seguita da analisi elettroforetica dei prodotti della PCR; NAT e sierologia per Parvovirus Umano B19.

Risultati

Tutti i sieri sono risultati negativi alla sensibilissima nested PCR per HHV-7, per HHV-8 e per Parvovirus Umano B19.

Tutti i sieri sono risultati negativi alla ricerca di anticorpi anti Parvovirus umano B19 della classe IgM. Per gli anticorpi di classe IgG sono risultati positivi 15/20

casi acuti; 6/9 casi al follow up e 6/10 sieri dei controlli sani.

Conclusioni

Aggiungiamo HHV-8 alla lista degli agenti per i quali i dati sperimentali non appoggiano l'ipotesi di un coinvolgimento patogenetico nella dermatosi oggetto di indagine; confermiamo che il parvovirus umano B19 non è implicato nella patogenesi della pitiriasi rosea; neghiamo la presenza di HHV-7 nel siero dei soggetti affetti da pitiriasi rosea di Gibert, mettendo in discussione la tesi che vedeva tale virus in rapporto causale con questa patologia.

Col contributo di ricerca 'ex60%' del MIUR.