

**P191****RICERCA DI HPV SU SISTEMA THINPREP E TIPIZZAZIONE MEDIANTE IL TEST INNO-LIPA HPV GENOTYPING**

Marcante R.; Panozzo P.; Pinalto N.; Cavedon G.

Unità Semplice di Virologia-Laboratorio Analisi O.C. SCHIO

La ricerca di HPV è stata eseguita su 307 campioni prelevati da donne con anomalie citologiche al pap-test (Ascus, LSIL, HSIL). L'estrazione del DNA (CLEAN DNA, A.B. ANALITICA, PD.) è stata eseguita partendo dallo stesso materiale prelevato per l'esecuzione del pap test con il sistema per la citologia in fase liquida (ThinPrep). La amplificazione è stata effettuata mediante un sistema di PCR che utilizza i primers degenerati MY09/11, in grado di amplificare una sequenza di 450 b.p appartenente alla regione L1 di HPV (Ampliquality HPV, A.B. ANALITICA, PD.) Su tutti i campioni è stata inoltre amplificata la b-globina per verificare la adeguatezza del materiale estratto. Solo 5 campioni sono risultati non idonei all'amplificazione di HPV. I campioni evidenziati come positivi sono stati pertanto 59 su 302 (19.5%). La percentuale di positività è stata rispettivamente del 13.9% nei campioni con ASCUS e del 58.38% nei campioni con lesioni di basso e alto grado. La tipizzazione degli isolati di HPV è stata eseguita mediante analisi di restrizione del frammento amplificato utilizzando 3 enzimi (RsaI, HaeIII e PstI). Le corse elettroforetiche su Metaphor agar sono state analizzate mediante analisi di immagine su sistema Gel Doc 2000. Quaranta campioni positivi per HPV sono stati inoltre tipizzati con il sistema commerciale INNO-LiPA HPV Genotyping (INNOGENETICS) che prevede la amplificazione di un frammento di 65 b.p. nella regione L1. Gli ampliconi biotinilati e denaturati, sono stati ibridati con probes immobilizzati su strisce di nitrocellulosa specifici per 22 differenti genotipi di HPV. Il confronto tra i due sistemi di identificazione di HPV ha permesso di trarre alcune considerazioni: 1) I due sistemi concordano nei campioni in cui è presente un solo genotipo. 2) Il sistema INNO-LiPA sembra evidenziare un maggior numero di infezioni miste alcune delle quali non riscontrate con l'analisi di restrizione. 3) L'analisi di restrizione è difficilmente interpretabile nel caso di infezioni miste. 4) L'analisi di restrizione non permette di identificare il genotipo nei campioni con debole banda di positività allo screening mentre il test INNO-LiPA è in grado di fornire il genotipo anche su questi campioni. 5) Alcuni campioni positivi al test di screening sono risultati non tipizzabili con il sistema INNO-LiPA.

**P192****CYTOMEGALOVIRUS IGG AVIDITY: VALIDITÀ DEL TEST PER LA DETERMINAZIONE DELLO STATO CLINICO DEL PAZIENTE.**

Mazzarelli G.\*, Parri F.\*, Dal Maso G.\*\*\*, Paoli C.\*\*

\*Laboratorio di Sieroinmunologia A.O.U.C. Careggi  
viale Pieraccini 17 Firenze

\*\* Dienes S.p.A. via delle Rose 10 53035 Monteriggioni Siena

Il significato diagnostico e l'importanza della determinazione dell'avidity degli anticorpi IgG verso un determinato antigene sono oramai noti da tempo. Con il presente studio si intende valutare le prestazioni del Kit Enzywell

Cytomegalovirus IgG Avidity (Diesse) con su campioni di siero pervenuti presso il Laboratorio di Sieroinmunologia con richiesta di ricerca di anticorpi anti Cytomegalovirus. 207 sieri sono stati testati, di questi si conosceva la storia clinica del paziente, il reparto di provenienza e i risultati ottenuti con i kit Vidas IgG e IgM (Biomerieux); i campioni risultati IgM positivi venivano ulteriormente testati con il kit Enzygnost Anti CMV /IgM (DADE Behring).

In base alle suddette informazioni i 207 sieri sono stati suddivisi in 4 distinti gruppi di appartenenza:

Pazienti con infezione pregressa. (n=166)

Pazienti trapiantati renali (n= 19)

Pazienti con infezioni primarie (n= 17)

CMV IgM Falsi Positivi (n=5)

I gruppi 1 e 4 mostravano valori di Avidity compresi tra 50 e 99%. Nel gruppo 3 l'avidity rilevata variava da un minimo di 6 ad un massimo di 35%; nel gruppo dei pazienti trapiantati i valori di avidity erano maggiori del 50% in tutti i soggetti.

I dati ottenuti confermano le buone prestazioni del kit discriminando correttamente i pazienti con infezione acuta in atto da quelli con infezione pregressa, con valori di avidity che aumentano con il passare del tempo dalla fase acuta dell'infezione.

Il test si conferma nella sua utilità nel caso di reazioni aspecifiche in IgM.

La determinazione dell'avidity degli anticorpi IgG anti Cytomegalovirus nei pazienti trapiantati, è risultata di relativo significato diagnostico.

**P193****DIAGNOSI RAPIDA DI INFEZIONE DA ADENOVIRUS UMANI MEDIANTE REAZIONE POLIMERASICA A CATENA DI TIPO NESTED.**

M.C., Aloisi A., Martinelli M., Abelli L.A., Arcangeletti M.C., Pinardi F., De Conto F., Valcavi P., Casula F., Calderaro A., Chezzi C. e Dettori G.

Sezione di Microbiologia, Dipartimento di Patologia e Medicina di Laboratorio, Università degli Studi,  
Viale Antonio Gramsci 14, 43100 Parma

Gli adenovirus umani causano una grande varietà di sindromi cliniche che comprendono, tra le più frequenti, enterite e malattia respiratoria acuta come pure congiuntivite. I metodi avanzati di amplificazione genica offrono una vantaggiosa alternativa ai metodi considerati ormai tradizionali (coltura cellulare, microscopia elettronica-ME, immunofluorescenza-IF, agglutinazione al lattice e saggio immunoenzimatico) per la rivelazione di adenovirus nei campioni clinici.

In questa nota vengono riferiti gli esiti delle prime prove per la valutazione di un saggio diagnostico commerciale ("Adenovirus-oligomix", Amplimedical, Italia) per l'amplificazione mediante nPCR di un frammento genomico codificante per l'esone capsidico di adenovirus.

La specificità dei "primers" è stata dimostrata dall'esito negativo ottenuto dal saggio di 14 campioni clinici contenenti virus diversi da adenovirus che possono infettare gli apparati respiratorio e intestinale e l'occhio.

L'nPCR ha rivelato DNA di adenovirus in 5 di 39 (12,8%) secrezioni respiratorie, 6 di 22 (27,3%) feci e nessuno di 2 (0%) tamponi congiuntivali appartenenti a pazienti pediatrici ricoverati in gennaio 2004 con sindrome respiratoria, gastroenterica o congiuntivite, rispettivamente, risultati negativi per altri virus mediante metodo colturale e/o IF sulle secrezioni respiratorie e/o ME sulle feci.