

**P209****ABBOTT LCx HCV-RNA  
E DETERMINAZIONE DEL GENOTIPO HCV  
CON METODO LiPA:  
UTILIZZO DEI CAMPIONI ESTRATTI PER LCx**

Valentini O.<sup>1</sup>, Pulvirenti FR.<sup>2</sup>, Comastri G.<sup>2</sup>,  
Domenighini D.<sup>1</sup>, Milanese B.<sup>1</sup>

Laboratorio di Patologia Clinica, Osp. di Gavardo (BS)<sup>1</sup>  
Abbott Molecular Diagnostics, Roma<sup>2</sup>

**Obiettivo.**

L'integrazione tra i processi analitici per la quantificazione viremica e per la genotipizzazione di HCV rappresenta un aspetto importante nella organizzazione del flusso di lavoro. Di recente è stato introdotto nel Laboratorio Clinico un nuovo dosaggio per la quantificazione di HCV-RNA, Abbott LCx HCV-RNA, dotato di un ampio intervallo di linearità (23–2.300.000 UI/mL) e basato su RT-PCR competitiva e curva di calibrazione esterna.

Il dosaggio amplifica una regione di 104 bp situata nella regione 5' UTR di HCV.

Al termine della reazione di RT-PCR i prodotti di amplificazione risultano marcati con gli apteni carbazolo e adamantano e non sono quindi direttamente genotipizzabili mediante "Line Probe Assay" (LiPA, Bayer), che richiede un amplificato biotinilato, rivelato, dopo ibridazione su striscia, mediante streptavidina-fosfatasi alcalina.

Abbiamo inteso allora verificare la compatibilità degli estratti ottenuti su colonne QIAmp secondo quanto previsto dalla metodica LCx con il test LiPA (Bayer), previa retrotrascrizione e amplificazione della regione 5'UTR, mediante il kit "HCV RNA screening" della Nuclear Laser Medicine.

In particolare vi era da verificare l'eventuale interferenza dello standard quantitativo interno (105 bp) aggiunto all'inizio della fase di estrazione e perciò presente nell'estratto, per la possibilità che tale competitore venisse parimenti amplificato attraverso gli inneschi biotinilati e ibridasse poi sulla striscia LiPA.

**Metodi.**

Dei 120 ul di eluato di RNA purificato, 50 ul sono stati impiegati per la determinazione della carica virale mediante LCx e 30 ul sono stati congelati e poi utilizzati per la retrotrascrizione e la successiva amplificazione mediante "HCV-RNA screening" della NLM. Gli amplificati sono stati poi utilizzati per l'ibridazione con metodo LiPA.

**Risultati.**

La procedura di genotipizzazione con LiPA da estratto LCx è stata verificata finora su 60 campioni, sui quali sono stati ottenuti tutti i quadri di ibridazione più frequenti, corrispondenti ai genotipi 1a,1b,2a/2c,2, 3a,4,4c/4d. In tutti i campioni saggiati il competitore interno non dà luogo ad alcuna banda di ibridazione, e del resto nessuna banda di ibridazione si ottiene sottoponendo il competitore da solo (in assenza di HCV) a RT-PCR con inneschi NLM e poi a test LiPA.

**Conclusioni.**

Gli estratti ottenuti in corso di determinazione quantitativa di HCV-RNA con metodo Abbott LCx possono, previa retrotrascrizione e amplificazione con un kit commerciale per HCV-RNA (NLM), essere utilizzati per la genotipizzazione con la ormai diffusissima metodica LiPA (Bayer). Ciò consente di ottimizzare risorse e tempi di esecuzione per chi utilizzi la metodica LCx per la quantificazione e la metodica LiPA per la genotipizzazione di HCV.

**P210****VACCINAZIONE ANTIINFLUENZALE 2003/04  
NEI SERVIZI DI DIAGNOSTICA  
DI LABORATORIO DELL'AO POLICLINICO  
DI MODENA**

Vecchi E.<sup>(1)</sup>, Pecone L.F.<sup>(1)</sup>, Marchegiano P.<sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup>Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia,  
Via Campi, 287, 41100 Modena,

<sup>(2)</sup>Azienda Ospedaliera Policlinico di Modena,  
Via del Pozzo 71, 4100 Modena

La campagna vaccinale antinfluenzale 2003-2004 comprende tra gli aventi diritto gratuitamente anche tutti coloro che operano in strutture sanitarie (sia personale sanitario che amministrativo). Quest'anno è stata incentivata la vaccinazione soprattutto per evitare, considerata la sintomatologia per alcuni caratteri sovrapponibile tra SARS e influenza, che si mascherino casi di SARS rendendo difficoltosa la diagnosi differenziale. Nell'Azienda Ospedaliera Policlinico di Modena, la vaccinazione è stata messa a disposizione di tutto il personale come da Circolare Ministeriale.

La fonte dei dati sono le schede vaccinali compilate all'atto della vaccinazione dal medico-vaccinatore.

Dei 2.859 dipendenti dell'AO di Modena ne sono stati vaccinati 596 (20.8%) di cui 230 (38.6%) infermieri, 197 (33.1%) laureati, 93 (15.6%) tecnici e 76 (12.8%) amministrativi. La categoria che proporzionalmente è stata più vaccinata è quella dei laureati (35.2% sul totale dei laureati), poi gli amministrativi (22%), gli infermieri (19.2%) e da ultimi il personale tecnico (12.3%). Nei servizi di microbiologia e virologia, tossicologia e farmacologia, immunotrasfusionale e laboratorio centralizzato sono stati vaccinati il 60.5% dei laureati in servizio, 40% degli infermieri, 28.9% dei tecnici, e nessun amministrativo. In generale, il personale dei servizi considerati rappresenta il 4.8% del totale del personale aziendale e di questi ne sono stati vaccinati il 35.5% e, in particolare, il 36.4% del personale del servizio di microbiologia e virologia, il 30% del personale del servizio di tossicologia e farmacologia, il 45.3% del personale del laboratorio centralizzato e il 26.4% del servizio immunotrasfusionale.

In conclusione, la copertura vaccinale antiinfluenzale nei servizi di laboratorio dell'Azienda Ospedaliera Policlinico di Modena risulta complessivamente bassa (35.5%). Il personale del laboratorio centralizzato è stato quello che si è vaccinato maggiormente (45.3%). La categoria professionale che maggiormente si è vaccinata nei servizi considerati è quella del personale laureato (60.5%).

**P211****OSSERVAZIONI SULL'USO DI PRODOTTI  
PER L'IGIENE INTIMA FEMMINILE**

Audisio G.; D'Errico L.; Pasino C.; Orsogiacone G.

ASL 5 Laboratorio Analisi Collegno (TO)

Una indagine DOXA realizzata nel mese di aprile 2001 evidenziava che il 73% delle donne intervistate dichiarava di provvedere alla propria igiene intima in media più di una volta al giorno. Confrontando i dati anamnestici e i risultati batteriologici eseguiti sugli esami vaginali delle pazienti afferenti al nostro Laboratorio analisi, si evidenzia che il 64% degli esami di 1992 pazienti che si era dichiarata sintomo-

matica era negativo. Per valutare se ci fossero eventuali correlazioni con l'utilizzo di prodotti per l'igiene intima è stato richiesto di specificare il tipo di detergente usato.

Il 69,4% delle pazienti utilizza un prodotto comprato al supermercato, il 12,95% sapone di marsiglia o acqua, il 16,52% un prodotto acquistato in farmacia, l'1% un prodotto di erboristeria e lo 0.10% un prodotto omeopatico. Tabelle analitiche riportano le osservazioni relative alla sintomatologia (prurito, bruciore, disuria) correlate al tipo di prodotto usato: si dichiarano più sintomatiche le pazienti che usano prodotti di farmacia. Vengono riportate inoltre le osservazioni sugli isolati: candida (maggiore riscontrata nelle utilizzatrici del sapone di marsiglia), *Gardereella v.* (p. farmacia), opportunisti (p. farmacia). Infine si riportano le correlazioni tra l'utilizzo dei vari tipi di prodotti e la "formazione culturale" delle pazienti, prendendo come indici la scolarità, l'età delle pazienti e il tipo di assorbente usato.

## P212

### VALUTAZIONE DI ATTIVITA' ED EFFICACIA DI UN SAPONE ANTISETTICO SPECIFICAMENTE STUDIATO PER L'USO IN TERAPIA INTENSIVA.

Besutti V., Barbazza R., Prenzani D., Grisi G., Sorio O.

*Servizio di Farmacia O.C.M., Azienda Ospedaliera di Verona*

#### Scopi

Il lavaggio antisettico delle mani è un punto critico nel controllo delle infezioni nosocomiali. E' noto che i detergenti a base alcoolica sono gli agenti antisettici più efficaci nel ridurre la flora batterica della cute.

L'obiettivo dello studio è di valutare l'attività e l'efficacia di un sapone antisettico formulato per l'uso nosocomiale ed allestito all'interno di un ospedale.

Lo studio dell'attività indica verso quale categoria di microrganismi agisce il disinfettante e ne determina il tempo di contatto.

L'efficacia valuta la rimozione della flora microbica in termini di riduzione logaritmica della carica.

#### Metodologia

I test sono stati eseguiti mediante filtrazione su membrana (0,45 µm), dopo relativa convalida. I batteri esaminati sono stati *P. aeruginosa*, *S. aureus* (secondo Farmacopea Ufficiale XI edizione) e *S. epidermidis* quale Stafilococco coagulasi negativo che colonizza la cute. Il prodotto è stato testato dopo 1 e 5 minuti di contatto con i microrganismi alla concentrazione iniziale di 10<sup>8</sup> UFC/ml.

#### Risultati

Il sapone antisettico agisce su tutti i batteri: dopo 1 minuto di contatto, il prodotto ha ridotto la carica microbica dei due ceppi di Stafilococchi fino a 10<sup>2</sup> UFC/ml e dopo 5 minuti fino a 1 UFC/ml. I batteri gram negativi sono stati abbattuti completamente dopo essere stati per 1 minuto a contatto col sapone.

#### Considerazioni conclusive

Il prodotto in esame si può considerare attivo ed efficace verso i microrganismi testati, avendo ridotto la carica di almeno 5 log.

Il lavaggio della cute con sapone antisettico può migliorare l'igiene delle mani e quindi ridurre la trasmissione di microrganismi patogeni a pazienti ed operatori sanitari impegnati nelle terapie intensive.

La scelta di introdurre nei protocolli della disinfezione un detergente a base alcoolica, in associazione con altri antimicrobici di provata efficacia, potrebbe contrastare l'attuale problema emergente della resistenza alla terapia antibiotica.

## P213

### ONTOGENESI DELLA FLORA INTESTINALE NEI PRIMI SEI MESI DI VITA: EVIDENZE DALLO STUDIO ALLERGYFLORA

Bonanno C.L., Avaltroni N., Benedetti C., Cocciolillo G.C., Cristaldi A., Lauri S., Longo R., Mesiti A., Panetta V., Spanò A., Tripodi S., Matricardi P.M.\*

*Servizio di Microbiologia Ospedale "S. Pertini" ed \*Asthma & Allergy Research Unit Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma*

#### Introduzione.

L'igiene durante il parto e nella vita quotidiana condiziona la composizione della normale microflora intestinale. Poiché nel topo la microflora intestinale sostiene la tolleranza ad antigeni orali, le trasformazioni della flora intestinale indotte dall'igiene potrebbero contribuire all'epidemia di allergie nei Paesi sviluppati.

#### Scopo.

Il Progetto europeo ALLERGYFLORA valuta la possibile relazione tra la colonizzazione batterica intestinale nel primo anno di vita e lo sviluppo di allergie in 300 bambini Italiani, Svedesi ed Inglesi. Riportiamo l'analisi preliminare della microflora intestinale di 81 bambini italiani nel primo semestre di vita.

#### Materiali e metodi.

Abbiamo studiato la flora intestinale aerobia o facoltativamente anaerobia di 81 bambini a 3 giorni dalla nascita, prelevata con un tampone rettale. La flora aerobia ed anaerobia è stata valutata in campioni fecali raccolti in anaerobiosi ad 1, 2, 4, 8 settimane ed a 6 e 12 mesi, conservati a +4°C e seminati su terreni standard selettivi e non selettivi entro 24h. Sono stati coltivati ed identificati (API 20E e Rapid Id32A, Bio-Mérieux) Enterobatteri, Stafilococchi, Enterococchi, Lattobacilli, Bifidobatteri, Clostridi, Bacteroides e Lieviti.

#### Risultati.

Come atteso, la flora aerobia si è ridotta e quella anaerobia incrementata nel primo mese di vita.

Tra gli aerobi, aumenta progressivamente la presenza delle Enterobatteriacee [79% a 7 giorni, 100% a 6 mesi] tra cui *E. Coli* [48% a 7 giorni, 86% a 6 mesi], dello *Stafilococcus aureus* [18% a 7 giorni, 49% a 6 mesi] e degli Enterococchi [82% a 7 giorni, 100% a 6 mesi], si riducono invece gli Stafilococchi coagulasi negativi [96% a 7 giorni, 55% a 6 mesi].

Tra gli anaerobi, aumentano progressivamente Clostridi, Lattobacilli e Bifidobatteri. Scarsa la frequenza di *Bacteroides* [12% a 7 giorni, 27% a 6 mesi].

#### Conclusioni.

L'ontogenesi della flora microbica in bambini italiani è caratterizzata da una ritardata acquisizione di Enterobatteriacee e da una prolungata presenza di *Staphylococcus aureus*.

Ciò dimostra differenze rispetto a quanto avviene in bambini nati e cresciuti in Paesi in via di sviluppo, dove l'*E. Coli* compare invariabilmente nella prima settimana di vita.

Le fasi successive dello studio permetteranno di verificare se tali differenze determinano un maggior rischio di allergie tra i nostri bambini.