

R5), non spiegano l'aggressività del decorso dell'infezione, che è stata prontamente controllata dalla terapia antiretrovirale.

G025

VALUTAZIONE DI 500 SIERI POSITIVI A BASSO TITOLO PER HCV-Ab CON METODO AUTOMATICO IN CHEMILUMINESCENZA

Cecchini F., Gagetta M., Mauri A., Turrini D., Guagnellini E.

Laboratorio di Biochimica Clinica e Microbiologia,
Azienda Ospedaliera San Paolo, Milano.

Scopo di questo lavoro è di verificare, per intervalli predefiniti, l'accuratezza dei risultati del test antiHCV eseguiti sul sistema ORTHO Vitros ECi (test di screening) verso il metodo LIA - InnoGenetic (test di conferma) e di definire le procedure operative da adottare al riscontro di sierii antiHCV analiticamente critici. I dati riportati sono riferiti al periodo Febbraio 2001 - Febbraio 2003. In questo periodo sono stati eseguiti 20860 test antiHCV su ECi (cut off dichiarato ≥ 1) e tutti i campioni che hanno dato un risultato compreso tra 0.8 - 20, sono stati ritestati con metodo LIA. Di tutti i campioni eseguiti nell'arco del periodo indicato, ben 509 sono stati i campioni confermati con LIA mentre i restanti 20351 non sono stati rianalizzati in quanto non cadevano nell'intervallo da noi scelto. Per meglio valutare l'accuratezza dei risultati di ECi, l'intervallo 0.8 - 20 è stato suddiviso in tre classi: 0.8 - 5; 5 - 10; 10 - 20. Per la prima classe sono stati ritestati 254 campioni che hanno dato i seguenti risultati in LIA: 117 negativi, 96 indeterminati, 41 positivi. Per la seconda classe sono stati testati con metodo LIA 102 campioni che si sono così distribuiti: 57 positivi, 34 indeterminati, 11 negativi. Infine per l'ultima classe, 153 sono stati i campioni ritestati di cui 136 si sono confermati positivi, 7 negativi e 10 indeterminati. L'analisi del χ^2 ha rilevato una differenza statisticamente significativa tra i due metodi ($p = 0.001$) per le prime due classi (0.8 - 5 e 5 - 10). Tale differenza potrebbe essere legata alla diversa sensibilità/specificità tra test di screening (ECi) e test di conferma (LIA). Alla luce dei risultati ottenuti, riteniamo necessaria l'esecuzione di un test di conferma per tutti quei campioni che cadono nell'intervallo 0.8 - 10.

G026

CANCRO DEL POLMONE ED INFEZIONE DA HPV

Ciotti Marco¹, Paba Piepaolo¹, Ambrogio Vincenzo², Benedetto Arrigo¹, Mineo TC², Cartesio Favalli¹.

Università di Roma Tor Vergata, Policlinico Universitario

¹ Laboratorio di Microbiologia e Virologia Clinica,

² Dipartimento di Chirurgia Toracica Viale Oxford, 81 00133 Roma

Il tumore al polmone è la principale morte per cancro nei paesi occidentali. Il fumo di sigaretta e l'inquinamento ambientale sono considerati i più importanti fattori di rischio nello sviluppo del cancro polmonare anche se non possono spiegare la totalità dei decessi. Quindi altre cause, oltre quelle chimiche, sono implicate nella cancerogenesi polmonare. Venti pazienti con carcinoma polmonare non a piccole cellule (NSCLC) sottoposti ad intervento chirurgico presso il

Dipartimento di Chirurgia Toracica del Policlinico Universitario Tor Vergata sono stati arruolati nello studio. I tumori sono stati classificati secondo il sistema TNM ed erano tutti allo stadio 1A. L'istologia tumorale era la seguente: 11 carcinomi squamosi, 6 adenocarcinomi e 3 carcinomi a grandi cellule. Mediante metodiche molecolari (PCR e Ibridazione inversa) abbiamo ricercato il virus del Papilloma umano (HPV) nelle sezioni tumorali fissate in paraffina dei suddetti casi. Tessuto polmonare sano è stato incluso come controllo. Le nostre indagini hanno mostrato la presenza del virus in 9 casi su 20 (45%) e in tutti i casi positivi, tranne uno, erano presenti da tre a cinque genotipi contemporaneamente (16,18,31,45,66 e 68). La presenza del virus non era correlata al tipo istologico del tumore anche se i soggetti con carcinoma squamoso hanno presentato una riduzione della sopravvivenza rispetto a quelli con adenocarcinoma e carcinoma a grandi cellule. Questi dati preliminari suggeriscono che l'HPV può avere un ruolo nella cancerogenesi polmonare.

G027

ANALISI DELLO STATO FISICO DEL DNA DI HPV16 IN LESIONI CERVICALI DI ALTO GRADO MEDIANTE UN SAGGIO DI REAL TIME PCR

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

Dipartimento di Medicina Clinica, Specialistica e Sperimentale,
Sez. di Microbiologia, Università di Bologna,
Via Massarenti 9, 40138 Bologna

L'integrazione del DNA di HPV nel genoma umano è un evento importante nella progressione delle lesioni preneoplastiche a carcinoma cervicale invasivo. Il passaggio dalla forma episomiale a quella integrata comporta più frequentemente la distruzione o delezione delle ORF E2 ed E1; tali eventi determinano una sovraespressione delle oncoproteine E6 ed E7 responsabili della trasformazione maligna.

Per analizzare, in lesioni preneoplastiche, la presenza di DNA di HPV 16 allo stato episomiale, misto e integrato sono stati allestiti saggi di PCR classica e di PCR real time.

Per lo studio sono stati analizzati campioni citologici eso-endocervicali provenienti da 10 pazienti, con CIN di alto grado e carcinoma microinvasivo, sottoposte a follow up postconizzazione.

Il DNA estratto dai campioni è stato sottoposto ad una prima analisi, mediante un saggio di PCR classica, che prevede l'amplificazione totale delle ORF E2 ed E6 allo scopo di discriminare le forme integrate da quelle miste ed episomiali. Successivamente i campioni sono stati analizzati mediante un saggio di PCR real time.

Per l'allestimento del saggio di PCR real time in formato SYBR Green sono state selezionate delle coppie di primer specifiche per E2 ed E6 in grado di amplificare frammenti di 150-300 paia di basi. Mentre la quantificazione di E6 permette di determinare la carica virale, la quantificazione relativa dell'E2 rispetto all'E6 fornisce il dato sullo stato fisico del DNA di HPV16: misto o episomiale.

Delle 10 pazienti analizzate il 20% mostravano l'HPV16 allo stato episomiale (2 CINIII), il 60% allo stato misto (5 CINIII e 1 carcinoma microinvasivo) e il 20% allo stato integrato (1 CINIII e 1 carcinoma microinvasivo).

L'applicazione clinica della tecnica di PCR real time, sia per lo studio dello stato fisico del DNA di HPV16 sia per la determinazione quantitativa del carico virale, risulta essere un valido strumento per valutare la prognosi in pazienti con infezione persistente da HPV 16 e lesioni di alto grado.