

**Risultati:** su 120000 unità testate, 80 sono risultate RR per HCV-Ab e 57 per HIV1/2-Ab. Al test HCV-RIBA 42 donatori/80 sono stati confermati positivi e 30 erano anche viremici (71%), 20/80 hanno dato esito indeterminato (15% NAT+), 18/80 negativi RIBA/NAT. 24 campioni RIBA/NAT positivi con ALT elevate presentavano uno score di 4+ nel 100% dei casi per la c33 e la c22, nell'87% per la c100 e solo nel 50% dei casi per l'NS5. I campioni RIBA indeterminati/NAT positivi esprimono solo Ab anti-c33 o -c22, con score 4+/3+. Con un pattern di espressione sovrapponibile i campioni NAT negativi presentano score bassi (1+,2+). Dei 57 HIV-Ab RR solo 4 (7%) sono risultati RIBA positivi con viremia in atto e 1 RIBA indeterminato (17%).

**Conclusioni:** La percentuale di donatori confermati HCV-Ab positivi aviremici è pari al 30%. Un risultato indeterminato al RIBA correla con la presenza di HCV-RNA nel 15% dei casi. I campioni NAT+ con ALT elevate evidenziano un pattern di espressione di tutte le bande antigeniche con score elevati (3+,4+).

PIPETTE	75 microl		25 microl		100 microl		200 microl		250 microl	
	1x	10x	1x	10x	1x	10x	1x	10x	1x	10x
N	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
media	74,47	748	24,3	247	98,75	199,05	248,1			
Min	73	739	24	241	97	196	247			
Max	79	759	26	255	100	209	249			
v.a.	75	750	25	250	100	200	250			
Acc.	-0,7%	-0,2%	-1,2%	-1,2%	-1,2%	-0,5%	-0,7%			
SD	1,46	3,8	0,57	2,8	0,71	2,45	0,44			
CV %	1,97%	0,51%	2,3%	1,15%	0,73%	1,24%	0,18%			

**Conclusioni:** Tutti gli strumenti mostrano nel tempo una buona precisione e accuratezza. Per il Tecan POOL (scostamento dal valore atteso -1,8%) si rende necessario un sistema di controllo gravimetrico e monitoraggio continuo gestito da un software dedicato. L'introduzione del programma CQC ci ha permesso di controllare a breve termine le performance del sistema e richiedere interventi mirati.

## G040

### VALUTAZIONE CONTINUA DELLA QUALITA' DEL TEST NAT PROCLEIX HIV-1/HCV.

Ghiazza P., Chiara M., Demarin G.; Demarchi G., Gariglio V., Martinelli A., Trivè M., Massaro A.L.

Dip. G. Medicina Trasfusionale A.O. OIRM S.Anna Torino.

**Scopo:** Il test NAT è in routine nel nostro Centro Trasfusionale dal 4/11/2001 (DGR 28-3449) con tecnologia singolo/minipool Chiron TMA Procleix Multiplex HIV-1/HCV Assay. Scopo di questo studio è individuare una procedura di controllo nel tempo di accuratezza e performance del metodo.

**Metodi:** Il nostro Centro raccoglie circa 90000 donazioni all'anno con un carico di lavoro giornaliero di 300-1000 unità. La tecnologia è validata in minipool da 8 campioni, che vengono allestiti da 2 TECAN Genesis RSP 150. Campioni in singolo e in minipool vengono testati su 2-3 run/giorno e distribuiti dal terzo TECAN Genesis secondo procedura Procleix HIV-1/HCV ASSAY (Chiron). Il sistema TMA-Procleix consiste in: 1 TCS (Target Capture System), 3 bagno-maria, 2 vortex, 1 Luminometro, 2 pipette Eppendorf. Con cadenza mensile abbiamo attuato un programma di Controllo Continuo della Qualità (CQC) per valutare la riproducibilità analitico-strumentale del test, che prevede sia misurazioni gravimetriche pre/post dispensazione di acqua distillata al posto di reagenti/plasma su TECAN-POOLING: 10 micropiastre e 120 provette pool; TECAN-TMA: 20 TTU (Ten Tube Unit); LUMINOMETRO: 20 TTU; TCS: 20 TTU; PIPETTE: 20 tubi con diversi volumi (25, 75, 100, 200, 250 microL); sia rilevamento della temperatura su sei punti: BAGNO-MARIA.

#### Risultati:

	TECAN-POOL	TECAN TMA	TCS	Luminom.		
	Micro-piastre	Tubi-pool	TTU	TTU disp. TTU asp.		
N	10	120	20	20	20	20
media	228,3 microL	1,57 ml	9,092 ml	10,1167	0,0013	3,902
Min	210	1,48	9,028	9,65	0,000	3,890
Max	232,2	1,62	9,114	10,187	0,009	3,978
v.a.	210	1,600	9,00	10,00	0,000	3,6-4,5
Acc.	+8,7%	-1,8%	+1%	+1%	+0,1%	(-3%)
SD	3	0,018	0,0219	0,120	0,002	0,018
CV %	1,56%	1,48%	0,2%	1,19%	/	0,47%

## G041

### DIAGNOSI DI LABORATORIO DELL'INFEZIONE DA CITOMEGALOVIRUS IN PAZIENTI SOTTOPOSTI A TRAPIANTO DI MIDOLLO OSSEO: DUE METODICHE A CONFRONTO.

Goffi M.B., Farris A.G., Satta G.  
e.mail: fantoniogio@tiscalinet.it

Laboratorio Analisi Ospedale "R. Binaghi",  
Via Is Guadazzonis 14, 09100 Cagliari

Il Citomegalovirus è un virus appartenente alla famiglia Herpesviridae, sottofamiglia Beta-Herpesvirinae, caratterizzato da un lungo ciclo replicativo ed è importante causa di mortalità nei soggetti immunodepressi.

L'infezione da Citomegalovirus o la riattivazione del virus stesso rappresenta quindi il rischio maggiore per il Paziente trapiantato che viene monitorato con indagini di Laboratorio che garantiscano una buona sensibilità.

Da circa quattro anni presso il nostro Laboratorio viene eseguita la determinazione del CMV-DNA su plasma dei Pazienti che hanno subito un trapianto di midollo osseo con metodica di amplificazione in PCR (CMV-Monitor - Roche diagnostics) ottenendo dei buoni risultati che, come già esposto in precedenti lavori, sono stati spesso d'aiuto al clinico nella scelta della terapia antivirale. Da circa un anno abbiamo affiancato a questo tipo di test anche la determinazione qualitativa dell'RNA messaggero per la proteina pp 67 del Citomegalovirus con metodica in amplificazione (Nuclisens CMV - Organon Tecnica) test che secondo i dati della letteratura mostra delle ottime performances nei confronti dell'antigenemia pp65 in particolare per ciò che riguarda la sensibilità (CMV Nuclisens: sensibilità 97%; antigenemia pp65: sensibilità 63 %).

Lo scopo del nostro lavoro è stato quello di valutare le caratteristiche del test a confronto con la metodica in uso presso il nostro Laboratorio (CMV-DNA Roche) con l'intento di stabilire se Nuclisens potesse essere di più valido aiuto nella diagnosi precoce dell'infezione da CMV.

Sono state eseguite 176 determinazioni contemporanee di CMV-DNA e mRNA pp67 su pazienti sottoposti a trapianto di midollo osseo di cui 151 sono risultati negativi con entrambe le metodiche, 11 campioni sono risultati concordemente positivi, 13 positivi per CMV-DNA e negativi per pp67, in un solo caso si è avuta la positività per pp67 e la negatività per CMV-DNA con una assorbanza abbastanza elevata. (Tab. 1) Nella maggior parte dei 13 casi positivi per il CMV-DNA e

negativi per la pp67 si è potuto osservare che:

1. il test era positivo con un basso numero di copie per ml;
  2. la clinica confortava sempre il dato positivo del CMV-DNA.
- Alla luce di questi risultati ci sembra di poter concludere che il test CMV-DNA è più sensibile specialmente nella fase iniziale dell'infezione e che il test del mRNA pp67 non ci dà informazioni maggiori sull'andamento dell'infezione e pertanto si decide di abbandonare questa linea di lavoro anche in virtù di una valutazione costo-beneficio con cui il Laboratorio moderno si deve confrontare.

**Tab. 1**

		pp 67		
		+	-	T
CMV -DNA	+	11	13	24
	-	1	151	152
T		12	164	176

## G042

### UTILITÀ DEL TEST DI IGG AVIDITÀ NELLA DIAGNOSI DELLA MONONUCLEOSI INFETTIVA

Maiorano G., De Corato P., Bruno C., Abete O., Giampaglia A., Smeraglia R.

*Servizio di Virologia Ospedale "Cardinale Ascalesi" ASL NA I -  
Primario Prof. Riccardo Smeraglia*

La diagnosi sierologica delle infezioni da virus di Epstein-Barr si basa sulla ricerca degli anticorpi IgG ed IgM diretti verso gli specifici componenti virali. Nella maggior parte dei casi il pattern anticorpale dell'EBV risulta sufficientemente efficace per inquadrare dal punto di vista diagnostico la fase della malattia o per escludere un'eventuale infezione in atto. Recentemente, sono stati messi in luce alcuni aspetti dell'infezione mononucleosica fino a poco tempo fa ancora poco conosciuti per l'inadeguatezza dei mezzi diagnostici a disposizione. Pertanto sono stati rivisitati e rivalutati alcuni casi che precedentemente rimanevano classificati come dubbi. L'utilizzo del test di avidità per le IgG anti EBV ha permesso di fornire utili indicazioni nei casi di infezioni croniche o riattivate, con persistenza di IgM, tardiva comparsa di anticorpi anti-EBNA, riattivazioni con comparsa di IgM di difficile interpretazione. Nel nostro laboratorio abbiamo utilizzato il test di chemiluminescenza (CLIA) della Dia-Sorin, con metodo automatizzato Liaison sia per la determinazione del profilo anticorpale che per la ricerca delle IgG avidità nei campioni di siero di pazienti con sospetta mononucleosi.

Sono stati esaminati in totale 56 campioni di siero provenienti da pazienti classificati, in base al profilo anticorpale, come segue: 25 con probabile infezione acuta (VCA IgM presenti, EBNA IgG assenti), 26 con infezione pregressa (IgG anti VCA ed EBNA IgG presenti) e 5 casi con profilo indeterminato (assenza di EA IgG, VCA IgM ed EBNA IgG a basso titolo).

Il test per la ricerca delle IgG avidità è stato eseguito su tutti i campioni (56/56) considerando che una bassa avidità (<0,40) corrisponde ad un'infezione contratta entro il mese precedente. Dei 25 casi con sospetta infezione acuta l'84% (21/25) ha dato come risultato una bassa avidità, inferiore allo 0,40 mentre il 16% (4/25) presentava alta avidità.

Nell'81% dei campioni con infezione pregressa è stata riscontrata un'avidità alta (21/26) mentre nel 19% l'avidità è risultata bassa (5/26). L'avidità è risultata essere alta nel 60% dei casi con valori di EBNA IgG border line ed è risultata bassa nel restante 40%.

In conclusione dai risultati ottenuti si evince che per una

migliore definizione dell'infezione da EBV è utile integrare la diagnosi sierologica con l'impiego del test di IgG avidità in particolare nei casi con pattern anticorpale dubbio.

## G043

### DETERMINAZIONE QUANTITATIVA DELL'EBV-DNA PLASMATICO E TEST DI IGG AVIDITÀ NELLA MONONUCLEOSI INFETTIVA

Maiorano G., De Corato P. Bruno C., Abete O., Scancariello G., Smeraglia R.

*Servizio di Virologia Ospedale "Cardinale Ascalesi" ASL NA I -  
Primario Prof. Riccardo Smeraglia*

L'analisi del profilo anticorpale dell'EBV, nella routine di laboratorio, permette di rilevare la presenza nel siero di immunoglobuline di classe IgG ed IgM dirette verso i principali antigeni dell'EBV: VCA- EA- ed EBNA, ma non sempre fornisce indicazioni utili alla diagnosi di mononucleosi infettiva, a causa della eterogeneità e complessità della risposta stessa legata a fattori spesso condizionati dalla soggettività della risposta immunitaria (tempi di risposta non convenzionali, persistenza di IgM, tardiva comparsa di anticorpi anti-EBNA, riattivazioni con comparsa di IgM, etc.). Lo scopo del lavoro è stato quello di valutare l'utilità della PCR quantitativa (qPCR) per la ricerca del genoma di EBV nel sangue, in associazione al test di avidità anticorpale nel siero per confermare o escludere il sospetto di mononucleosi infettiva in pazienti con profilo sierologico dubbio. La diagnosi sierologica viene effettuata nel nostro laboratorio con il metodo di chemiluminescenza (CLIA) LIAISON della ditta DIA-SORIN. In un periodo di 7 mesi sono stati esaminati 661 campioni per un totale di 2600 determinazioni, provenienti da pazienti con sospetta mononucleosi. IL 60,5% (pari a 400 campioni) erano infezioni pregresse, il 24% (pari a 158 campioni) sono risultate negative per assenza di anticorpi anti EBV, il 7,4% (pari a 49 campioni) infezioni riattivate e 54 pari all'8,1% infezioni acute. In particolare 20 campioni che allo screening sierologico erano risultati VCA IgM positivi sono stati ulteriormente studiati, approfondendo la diagnosi con il test di PCR DNA quantitativo (AMPLIMEDICAL) e il test IgG avidità (DIA-SORIN). Tutti i campioni esaminati provenivano da pazienti con sintomatologia acuta compatibile con infezione primaria da EBV. Il primo gruppo 15/20 campioni era costituito da pazienti con assetto sierologico dubbio (positività contemporanea di IgG e IgM anti VCA e IgG anti EBNA, o positività solo per IgM anti VCA, o valori border-line). Il secondo gruppo di campioni 5/20 era costituito da pazienti con profilo sierologico di infezione acuta (VCA IgG e IgM ed EA positivi ed EBNA assenti). Il test di EBV DNA PCR quantitativo è stato eseguito su tutti i pazienti (20/20). Nel primo gruppo il test di EBV DNA PCR quantitativo è risultato negativo in 14/15 pazienti e positivo in 1 paziente che presentava allo screening di base la sola presenza di IgM anti VCA ad alto titolo. Dei 5/20 campioni in fase acuta 4/5 erano positivi al test PCR quantitativo, 1/5 pazienti è risultato negativo, ma con un test di avidità delle IgG bassa.