

campanello di allarme di una situazione di infezione. La sintomatologia clinica d'altronde, estremamente subdola e sfumata, non è tale da fare insorgere un sospetto diagnostico di AIDS.

Metodologia usata: La positività del test di screening per HIV 1/2 ha richiesto, come sempre, l'esecuzione del test di conferma con Western-blot HIV-1 (ditta Biorad). Si osservano in entrambi i casi la presenza delle seguenti bande

POL p34

p68

GAG p24

Risultato INDETERMINATO ma altamente suggestivo per infezione da HIV-2

Ricerca di carica virale eseguita con metodica AMPLICOR HIV-RNA monitor - ditta roche - inferiore a 400 copie /ml. Linfociti CD4 in percentuale superiori al 30% in un caso al 50% nell'altro.

Risultati e conclusioni: La provenienza geografica dei soggetti, la sintomatologia clinica e i dati di laboratorio hanno fatto sospettare un'infezione da HIV-2, confermata successivamente con Western-blot HIV/2 - ditta BIORAD.

G053

INFEZIONI DA *C. TRACHOMATIS*, HPV E *CANDIDA SPP*: ESPERIENZA NEL BIENNIO 2001-2002 IN UN GRUPPO DI DONNE IN ETÀ FERTILE

Schiavone M.L., Ursitti A., De Sandro M.V., Pontani G.,
Tuccinardi C., Pietrobattista P.*, Del Vecchio A.M.*, Spanò A.

Servizio di Microbiologia-Ospedale "S. Pertini"

* Consultorio di Tor Cervara, ASL RM/B

Obiettivo: Obiettivo di questo lavoro è stato quello di valutare la prevalenza di alcune infezioni uro-genitali in un gruppo di donne, sessualmente attive ed in età fertile, e fornire informazioni quantitative in grado di migliorare la prevenzione primaria e le procedure di screening sulle malattie sessualmente trasmesse. In particolare, sono stati considerati tre agenti responsabili di MST (*C. trachomatis*, HPV e *Candida spp.*), utilizzando come strumenti diagnostici di laboratorio test biomolecolari, che hanno consentito di rilevare l'infezione in mancanza sia di segni e sintomi specifici, sia di alterazioni citomorfologiche.

Materiali e metodi: Lo studio, svolto dal 26.03.2001 al 17.12.2002, è stato condotto tra il Consultorio di Tor Cervara ed il Servizio di Microbiologia dell'Ospedale S. Pertini di Roma, con la collaborazione di 295 donne di età compresa tra i 18 ed i 45 anni. Il protocollo ha previsto una visita di arruolamento durante la quale le donne, dopo aver fornito il loro consenso a partecipare allo studio, sono state sottoposte alla compilazione di un questionario specifico per la raccolta dell'anamnesi, ad una visita ginecologica ed alla raccolta di campioni biologici. I campioni prelevati sono stati sottoposti ad indagini molecolari, per quanto riguarda *C. trachomatis* ed HPV (metodica C.t. Abbott LCR, metodica Digene CT-ID Test, metodica Digene HPV Test), ed isolamento colturale, per quanto riguarda *Candida spp.*

Risultati La ricerca di HPV è risultata positiva in 39 campioni: 25 positivi per HPV ad alto rischio, 10 positivi per HPV a basso rischio, 4 positivi per HPV sia ad alto che a basso rischio. Dei 25 campioni positivi per HPV ad alto rischio, soltanto in 2 casi è stata riscontrata una correlazione con il Pap test, risultato L-SIL-HPV in uno ed H-SIL-HPV nell'altro; mentre in un altro caso il Pap test è risultato negativo in paziente con pregressa cozzazione del 1998. La

ricerca di *C. trachomatis* da tampone endocervicale è risultata positiva in 7 campioni. La ricerca di *C. trachomatis* uretrale è risultata positiva in 9 campioni urinari. In tre casi l'infezione da *C. trachomatis* era estesa sia al distretto endocervicale che a quello uretrale. La ricerca di *Candida spp.* è risultata positiva in 72 tamponi vaginali che sono stati sottoposti ad identificazione biochimica e ad antimicogramma.

Conclusioni Dai risultati ottenuti si nota come la prevalenza di queste infezioni risulta essere del 5% per le infezioni da *C. trachomatis*, del 12% per le infezioni da HPV e del 25% per le infezioni da *Candida*. Si tratta di percentuali piuttosto alte se si considera che i soggetti analizzati non presentavano alcun segno e sintomo specifico di infezione e che soltanto in due casi il Pap test è risultato positivo per HPV.

G054

IMPLEMENTAZIONE SCREENING PER LA VALIDAZIONE BIOLOGICA DELLE UNITÀ DI SANGUE DELLA REGIONE LAZIO

Ursitti A., Schiavone M.L., Abbate I., Ronchi I., Spanò A.

Servizio di Microbiologia, Virologia ed Immunologia

Ospedale "S. Pertini" ASL RM/B

Razionale Il Centro di Riferimento Regionale Sicurezza Trasfusionale del Dipartimento di Diagnostica Strumentale ASL RM/B attivato dal 1.10.2001 per la ricerca dei costituenti virali dell'HCV propone l'estensione ai test molecolari relativi all'HIV-RNA ed HBV-DNA sulle unità di sangue raccolte nella Regione Lazio.

I dati riportati dalla letteratura scientifica degli ultimi anni indicano come il rischio d'infezioni da HBV, HCV ed HIV associate alla trasfusione si sia drasticamente ridotto, ma non del tutto annullato.

Attualmente sulle donazioni vengono eseguiti esclusivamente i test sierologici - con metodologia ELISA - tesi a rilevare rispettivamente l'anti-HIV e l'HbsAg. Ciò comporta la possibilità di trasfondere unità di sangue potenzialmente capaci di trasmettere infezione, ma risultate negative ai test di screening. Le cause possono essere ricondotte all'effettuazione della donazione nel periodo finestra, a donatori portatori d'infezione che non sierocvertono ed a varianti virali.

Metodologia L'estensione del programma di sicurezza trasfusionale ai test per la ricerca dei costituenti virali dell'HIV ed HBV con metodologia NAT non comporterà mutamenti organizzativi da parte del Centro di Riferimento Regionale per la Sicurezza Trasfusionale.

- L'attuale rete di raccolta dei campioni dei SIT della Regione Lazio, attivata nell'ottobre del 2001, che prevede l'utilizzo di sei autovetture si è rivelata efficiente ed in grado di rispondere prontamente anche a modifiche improvvise dei percorsi di raccolta.

- L'implementazione dei suddetti parametri non prevederà alcun aumento nel numero di campioni da trasportare, in quanto lo stesso campione verrà utilizzato per la determinazione contemporanea di HCV- RNA, HIV-RNA ed HBV-DNA,

- L'aumento del carico di lavoro sotteso alla determinazione dei costituenti posti in premessa non modificherà gli attuali tempi di risposta definiti entro e non oltre le 36 ore dal prelievo, così come la risoluzione dei pool positivi entro 48 ore.

Conclusioni I dati preliminari dello screening NAT-HCV indicano indubbiamente la validità di tale approccio in termini di prevenzione del rischio trasfusionale residuo, infatti, sebbene finora siano stati testati soltanto 819.000 donatori,

tre di questi sono risultati HCV-RNA positivi ma negativi alla ricerca degli anticorpi per il Virus dell'epatite C rafforzando la convinzione che la strada intrapresa è quella giusta e ci può realmente avvicinare all'obiettivo "rischio zero".

G055

VALUTAZIONE EPIDEMIOLOGICA DI UNA EPIDEMIA DI GASTROENTERITE DA NORWALK LIKE VIRUS

Vecchi E.; Pecone L.F.; Righi E.

Università di Modena e Reggio Emilia,
Dipartimento di Scienze Igienistiche, Microbiologiche e statistiche,
Via Campi, Modena, tel. 059/2055456,
e-mail lufforen@yahoo.it

Scopi L'analisi ha lo scopo di osservare dal punto di vista epidemiologico una epidemia di gastroenterite (g.e.) acuta: si è preso come esempio un episodio provocato dal Norwalk Like Virus (NLV) in un campeggio della Virginia (USA) nel luglio del 2001. Tra i 40.000 campeggiatori suddivisi in gruppi di 40-90 persone ciascuno, si sono avuti 56 casi di g.e. acuta in 3 dei gruppi. Per caso si intende un soggetto con presenza di rashe, vomito, diarrea, febbre, cefalea e tosse.

Metodologia La formula $R_1 = AR * K * D * S$ dove R1 è il numero di soggetti che si infettano a partire da un soggetto infetto e infettante in un certo periodo di tempo, AR è il tasso d'attacco o d'incidenza, K è il numero di contatti per unità di tempo, D è la durata del periodo d'infettività e S è la quota di suscettibili, permette di stimare la possibilità di diffondere di questo virus.

Per limitare l'epidemia, bisogna agire sui 4 fattori della formula per ottenere $R_1 < 1$: si può pertanto controllare l'utilizzo di quella che è la via di trasmissione classica del patogeno, diminuire i contatti tramite isolamento o modificazione dei comportamenti a rischio, somministrare antibiotici o altro per ridurre il periodo d'infettività, fornire un'immunità attiva o passiva quando è possibile.

Risultati Ponendo i casi accertati in un grafico temporale, si ottiene una distribuzione che indica una sorgente puntiforme d'infezione. Nell'epidemia qui considerata si è agito su K con l'isolamento dei casi, limitando i contatti tra sani e malati, e disinfettando le aree comuni e i servizi igienici. L'AR era del 23%.

L'analisi con RT-PCR delle feci del 15% dei casi evidenzia una positività per NLV nel 75% dei campioni esaminati: il risultato però giunse settimane dopo la scomparsa dei sintomi non consentendo così di agire su D mediante somministrazione di sostanze terapeutiche. S è vicino costantemente al 100% in quanto non esiste un vaccino, né la possibilità d'instaurare un'immunità post-infezione.

Conclusioni Considerata l'elevata incidenza di g.e. da NLV (96% delle g.e. non batteriche dal 1/96 al 7/97 segnalate al CDC), l'alto tasso d'attacco (fino all'82%), l'impossibilità di costituire un'immunità post-infezione, una bassa dose infettante (< 100 virioni), la molteplicità dei meccanismi di trasmissione (acqua, aerosol, cibo, persona-persona), le caratteristiche della popolazione maggiormente colpita (bambini <5 anni e poveri) e l'elevata morbosità, morbilità e mortalità legata alle gastroenteriti da NLV, l'analisi epidemiologica di questo focolaio epidemico dimostra come molto spesso per il controllo di epidemie non è possibile agire in via preventiva, se non preparando un vaccino. È anche utile l'uso del Microscopio Elettronico e dell'ELISA per una diagnosi più rapida dell'infezione quando si sospetta un'etiologia virale e in particolare di Norwalk Like Virus.

BIBLIOGRAFIA

1. CDC. Norwalk-Like Virus associated gastroenteritis in a large high density encampment-Virginia, July 2001. MMWR 2002; 51(30):661-3

G056

EPATITE B OCCULTA IN SOGGETTI HBSAG NEGATIVI SOTTOPOSTI A TRAPIANTO DI FEGATO PER CIRROSI SCOMPENSATA.

Zaccaria T., Franchi I., Zamboni F*, Marzano A.***, Barbui A., Franchello A.*, Carezni S.***, Ghisetti V., Marchiaro G.

Dipartimento di Patologia Clinica, S.C. Microbiologia,
*Centro Trapianto di Fegato, **Dipartimento di Gastroenterologia,
Azienda Ospedaliera San Giovanni Battista, Molinette, Torino.

L'infezione occulta da virus dell'epatite B (HBV) in soggetti negativi per l'antigene di superficie di HBV (HBsAg) è stata descritta in correlazione sia con un danno epatico su base criptogenetica sia con l'infezione da virus dell'epatite C (HCV). Tuttavia, l'entità clinica dell'epatite B "occulta" rimane da definire. Abbiamo studiato la presenza dell'infezione occulta da HBV nel fegato di soggetti HbsAg negativi sottoposti a trapianto e correlato la presenza dell'infezione alla recidiva epatitica nel post-trapianto e al rigetto.

Metodi. Tessuto epatico prelevato al momento del trapianto da 9 donatori e da 34 riceventi -14 HBsAg negativi e 20 HBsAg positivi- è stato analizzato per la presenza di HBV-DNA mediante Polymerase Chain Reaction (PCR) utilizzando set di primers indipendenti per il gene Core (nested-PCR) ed envelope (S) (real-time PCR e nested-PCR).

Risultati. La presenza di epatite occulta da HBV, definita dalla positività per entrambi i geni di HBV nel fegato, è stata identificata in 9 pazienti HBsAg negativi (64%), 7/9 con infezione da HCV. La carica virale intraepatica era più bassa nei soggetti HBsAg negativi che in quelli HBsAg positivi (valore mediano di HBV-DNA 1.14 $\log_{10}/\mu\text{g}$ DNA vs. 3.6 \log_{10} , $p < 0.0001$). Nessuno dei pazienti con epatite B occulta aveva HBV DNA plasma (uno solo nei linfociti) e nel fegato dei relativi donatori non è stato evidenziato HBV. Nessuno paziente ha recidivato HBV dopo il trapianto e non è stata evidenziata un aumento del rischio di rigetto.

Conclusioni. L'epatite B occulta è frequente nei soggetti HBsAg negativi con cirrosi allo stadio terminale avviati al trapianto epatico, ma non è associata allo sviluppo di una epatite B "de novo" né ad un rischio aumentato di rigetto nel post-trapianto. Il basso livello di HBV DNA nel fegato dei pazienti con infezione occulta suggerisce che HBV sia presente in uno stato di replicazione inattiva.