

comunicazioni orali

SESSIONE I

Epidemiologia molecolare in microbiologia

Mercoledì 3 ottobre 2007, ore 09.00 - 13.00, SALA BLU

CO1.1

METODO RAPIDO PER IDENTIFICARE I CEPPI DI CMV RESISTENTI AL GANCICLOVIR.

Alice T.¹; Cerutti F.¹; Varetto S.¹; Pittaluga F.¹; Giliberto G.¹; Mantelli S.¹; Lazzarotto T.²; Ghisetti V.¹

¹ S.C. Microbiologia, Azienda Ospedaliera S. Giovanni Battista di Torino, c.so Bramante 88/90 - 10126 Torino

² Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Ospedale S.Orsola Malpighi, Bologna

Introduzione. Un problema associato all'introduzione di misure di profilassi e di terapia precoce dell'infezione da CMV (basate sulla somministrazione prolungata di antivirali come ganciclovir (GCV) per via endovenosa e più recentemente per os), è dato dallo sviluppo di ceppi resistenti a GCV. Il 90% delle mutazioni che determinano la resistenza a GCV interessano il gene UL97 che codifica per la fosfotransferasi virale. E' importante ottenere dati rapidi sulla resistenza di CMV per poter scegliere un farmaco alternativo. Il nostro lavoro illustra un protocollo rapido di sequenziamento diretto, per l'identificazione di ceppi farmacoresistenti a partire direttamente dal sangue intero dei pazienti.

Metodi. Sono stati studiati 55 campioni di sangue intero, provenienti da 13 pazienti trapiantati di organo solido (n=7) e midollo allogenico (n=6), con infezione da CMV, che dopo periodi prolungati di pre-emptive therapy con GCV (una media di 8 settimane), avevano mostrato un innalzamento significativo dei valori di pp65 e CMV DNA.

Il protocollo di ricerca dei ceppi di CMV-resistenti a GCV prevede una reazione nested-PCR, per l'amplificazione della regione UL97 (dal codone 439 a 641) di CMV, sequenziamento diretto della regione amplificata seguito da analisi delle sequenze e confronto con

sequenza di riferimento AD169.

Risultati. La sensibilità del protocollo è di 30 copie di genomi/reazione. 5/13 pazienti presentavano mutazioni nel gene UL97; in 3 pazienti queste erano associate a resistenza al GCV (M460V, A594V e L595S); 2 pazienti presentavano mutazioni con incerto impatto di resistenza (1 Q449K e 1 C603F); un solo paziente presentava una mutazione silente (L447F).

Conclusione. Il protocollo sviluppato permette di identificare la presenza di ceppi di CMV resistenti al GCV, in tempi rapidi e con una buona sensibilità.

CO1.2

PRESENZA DEL PAPILOMAVIRUS (HPV) AD ALTO RISCHIO ONCOGENO IN UN CANCRO DELLA LARINGE E IN UNA METASTASI.

Giannattasio A.¹, Panetti G.², Fierro P.², Falco E.¹, Smeraglia R.³, Ingala F.¹

¹Virologia-P.O.Ascalesi - ASLNa1 - Napoli;

²Otorinolaringoiatria - P.O Ascalesi - ASLNa - Napoli;

³Microbiologia e Virologia - A.O.R.N. Monaldi - Napoli.

Introduzione. Diversi studi hanno dimostrato una relazione tra il Papillomavirus (HPV) e le lesioni benigne e/o maligne del cavo orale. Il nostro gruppo ha rilevato la presenza di un HPV ad alto rischio oncogenico sia in un cancro della laringe che in una metastasi linfonodale colliquata dello stesso soggetto.

Metodi. il DNA è stato estratto da tessuto paraffinato proveniente dal carcinoma laringeo e dal tessuto metastatico. Successivamente è stata amplificata la regione L1 (450bp) del genoma virale di HPV, utilizzando i consensus primers MY9/11. I prodotti della PCR sono stati rilevati su gel di agarosio e genotipizzati mediante ibridazione inversa su micropiastra (Nanogen spa).