

Le EPATITI VIRALI - A B C δ E G

EPATITE A

Il virus dell'epatite A (HAV) appartiene alla famiglia dei *Picornaviridae* ed è stato identificato nel 1973.

Dopo un periodo di incubazione (15-50 giorni), solo il 10% degli infettati sviluppa epatite, nella stragrande maggioranza con decorso subclinico. L'infezione non cronicizza, e la guarigione comporta una immunità di tipo permanente.

La via di trasmissione è oro-fecale, per ingestione di alimenti o acqua contaminati o per contatti interpersonali, rarissima è la trasmissione parenterale.

Il vaccino contro l'epatite A ha un alto potere protettivo e quindi preventivo e assicura immunità già dopo due settimane dalla prima dose, per circa 1 anno. A distanza di 6 mesi è necessario un richiamo, che prolungherà l'immunità per circa 10 anni.

DIAGNOSI

Marcatori di infezione

La determinazione diretta del virus nelle feci o nel siero (amplificazione mediante RT-PC) e la determinazione dell'antigene HAVAg nelle feci, rilevabile 10-20 giorni circa, dopo l'infezione trovano scarsa applicazione per una serie di motivi, il più importante è riferito al limitato periodo di eliminazione fecale del virus.

Determinazione degli anticorpi anti-HAV nel siero.

IgM anti-HAV sono i primi a comparire nell'infezione primaria, sia sintomatica che asintomatica, raggiungono titoli elevati e persistono per qualche mese, normalmente dopo un anno non sono più rilevabili.

Sono i marcatori di infezione primaria in fase acuta.

IgG anti-HAV, raggiungono il picco nell'arco di qualche settimana e perdurano per tutta la vita. In presenza di IgM indicano infezione in atto, in assenza di IgM infezione pregressa ed immunità.

Anti - HAV IgG o TOT	Anti - HAV IgM	Transaminasi ALT/AST	
-	-	-	Soggetto suscettibile
+	+	+	Infezione acuta da HAV
+	-	+	Infezione recente da HAV
+	-	-	Infezione pregressa o vaccinazione

EPATITE B

Il virus dell'epatite B (HBV) è un virus a DNA circolare che appartiene agli *Hepadnaviridae*. Gli antigeni che esso esprime sono essenzialmente tre:

- **HBsAg** antigene di rivestimento superficiale, chiamato originariamente antigene Australia,
- **HBcAg**, antigene "core" del nucleocapside,
- **HBeAg**, antigene solubile, contenuto anch'esso nel core.

Una variante genetica, diffusa anche in Italia, non fa esprimere l'HBeAg che, in questi casi, non può essere usato come marcatore di replicazione virale.

L'infezione primaria, dopo

un'incubazione da 6 a 16 settimane, associata ad un innalzamento delle transaminasi può dare origine a diverse situazioni cliniche:

- 1) infezione asintomatica, soprattutto in soggetti immunocompetenti.
- 2) epatite acuta, frequente dopo esposizione parenterale,
- 3) infezione cronica, che può evolvere in cirrosi ed epatocarcinoma.

In Europa circa il 28% dei casi di tumore epatico è da attribuire ad infezione cronica da HBV.

La via di trasmissione è prevalentemente quella parenterale ed il contagio è favorito spesso dall'asin-

tomaticità dell'infezione (portatori sani). Anche i contatti sessuali e la trasmissione perinatale contribuiscono alla diffusione dell'infezione.

Nei soggetti a rischio è consigliata la vaccinazione che si effettua per via intramuscolare, con 3 dosi a distanza di qualche mese ed un richiamo dopo 6 mesi, che renderà immuni per circa 10 anni.

E' consigliabile determinare il titolo degli Ab anti-HBs, per valutare la risposta del soggetto al vaccino.

DIAGNOSI

Marcatori di infezione

1) Determinazione diretta del virus nel siero, in particolare l'identificazione del genoma virale con tecniche di biologia molecolare (amplificazione mediante PCR). In caso di positività, il dato è significativo di replicazione virale e quindi di infettività. Il

DNA dell'HBV precede la comparsa dell'HBsAg. Spesso insieme alla ricerca della presenza del DNA è consigliato il

- **Dosaggio quantitativo**, utile per il follow-up del paziente durante il protocollo terapeutico.

2) Ricerca degli antigeni nel siero

HBsAg, è il marcatore di infezione per eccellenza ed è il primo a comparire. Può essere presente sia nelle infezioni acute che croniche,

HBeAg, nelle epatiti acute ha un significato prognostico importante poiché nell'arco di circa 6 settimane scompare, indicando una risoluzione in atto, oppure in presenza dell'HBsAg indica cronicizzazione dell'epatite.

HBcAg, generalmente non è rilevabile nel siero in quanto "mascherato" dall'HBsAg,

3) Determinazione degli anti-

corpi anti-HBV nel siero.

Anti-HBc, è il principale strumento di studio dell'infezione HBV, in quanto presente sia nell'infezione pregressa che in quella attiva. Infatti è rilevabile nel periodo "finestra", quando l'HBsAg è già scomparso e l'anticorpo anti-HBs (HBsAb) non è ancora comparso. Le IgM anti-HBc sono conferma di epatite acuta in presenza di HBsAg, o di infezione pregressa ed immunità verso l'HBV, se presente insieme all'anti-HBs,

Anti-HBs, è un anticorpo protettivo, salvo particolari mutazioni virali, la sua presenza indica un'infezione risolta o successo di vaccinazione.

Anti-HBe, è presente essenzialmente insieme all'anti-HBc, nella fase tardiva dell'infezione. Nel portatore di HBsAg ha significato prognostico favorevole.

HBs Ag	Anti - HBs	Anti-HBc	Anti-HBe	
+	-	-	-	Infezione acuta da HBV nella fase iniziale. Se permane per mesi, senza comparsa di Ab, si parla di "portatore sano"
+	+/-	+	-	Infezione acuta o cronica
-	+	+	+/-	Infezione pregressa ed immunità
-	-	+	+/-	Infezione remota, portatore, periodo finestra o falso-positivo
-	+	-	-	Soggetto vaccinato

EPATITE C

L'agente eziologico dell'epatite C (HCV) è stato isolato nel 1987; è un virus a RNA della famiglia dei *Flaviviridae*, che mostra una spiccata variabilità genomica e che ha fatto nascere l'esigenza di classificare i vari genotipi ed i numerosi sottotipi finora conosciuti.

Il periodo di incubazione è di circa 6 - 12 settimane, ma può essere più breve.

L'infezione acuta primaria, per lo più asintomatica, può decorrere con innalzamento a picco delle transaminasi, 30 - 60 giorni dopo il contagio e successiva normalizzazione o con fluttuazioni, spesso lievi. Rari sono i

coinvolgimenti clinici importanti (ittero e disfunzione epatica), rarissimi gli eventi fulminanti. Tuttavia questa infezione ha una spiccata tendenza a cronicizzarsi (circa il 70%), presentandosi spesso con polimorfismi clinici (es.: tiroiditi, glomerulonefriti) e con quadri clinici che vanno dall'assenza di danno epatico all'epatite ben definita. Nella maggior parte dei casi l'infezione cronica è subdola ed evolve, nell'arco di 20-30 anni, verso la cirrosi e l'epatocarcinoma. In Europa il 21% dei casi di tumori epatici è da attribuire all'infezione da HCV.

La via di trasmissione del virus HCV è essenzialmente parenterale, ma non è rara anche la trasmissione perinatale e per contatti sessuali.

I vaccini per l'epatite C sono

ancora in fase sperimentale, mentre è ormai di prassi la terapia con alfa-interferon, spesso associato a ribavirina.

DIAGNOSI

Marcatori di infezione

1) Determinazione diretta del virus nel siero, in particolare l'identificazione dell'RNA virale con tecniche di biologia molecolare (amplificazione mediante RT-PCR). La ricerca del genoma virale è una tappa importante dell'iter diagnostico oltre che molto utile per il monitoraggio delle terapie antivirali. In caso di infezione pregressa, il test HCV-RNA può essere negativo, mentre per i soggetti in terapia la scomparsa del virus può essere temporanea. Le

tecniche di biologia molecolare sono alla base anche di:

- **Genotipizzazione**, ossia l'identificazione del genotipo virale che ha causato l'infezione, utile nel trarre indicazioni per le terapie, in quanto alcuni genotipi sono più sensibili all'azione dei farmaci, e durante il follow-up,
- **Dosaggio quantitativo**, utile nello stabilire un protocollo terapeutico ed in genere per il follow-up del paziente.

2) Determinazione della risposta anticorpale

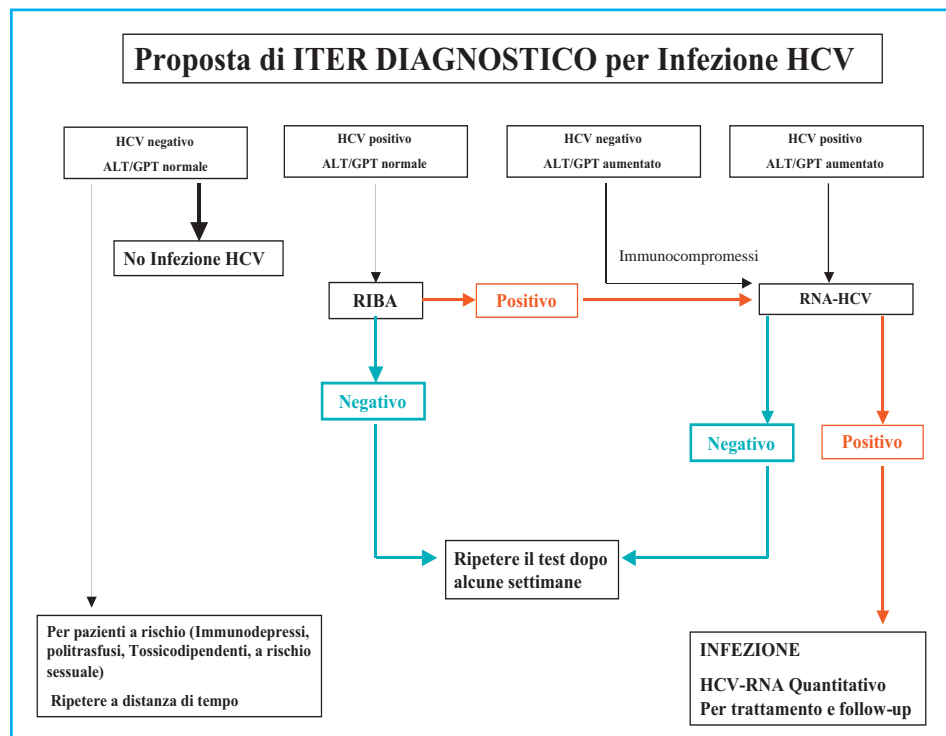
Anti-HCV. La risposta immunitaria, rilevabile in circolo attraverso l'identificazione degli anticorpi anti-HCV è segno inequivocabile dell'esposizione al virus, con o senza malattia. In molti casi la positività agli anti-HCV è associata alla positività dell'HCV-RNA; in una bassa percentuale di pazienti con epatite cronica si può avere HCV-RNA positivo e anti-HCV negativo.

A causa di interferenze tecniche

che possono essere presenti anche nei test di ultima generazione per l'identificazione degli anticorpi anti-HCV, il laboratorio ha a disposizione un test **di conferma (RIBA)** per riconoscere la specificità degli anticorpi anti-HCV. In pratica si

tratta di rilevare una reazione positiva tra gli anticorpi del paziente ed i vari antigeni virali (C1, C2, NS1, NS3, NS4, NS5).

Oltre il 75% dei pazienti positivi al RIBA è positivo anche a HCV-RNA.



EPATITE DELTA

L'agente dell'epatite δ (**HDV**) è un virus molto particolare in quanto è ricoperto dall'antigene di superficie dell'HBV (HBsAg), possiede un genoma a RNA che codifica per l'antigene δ (HDAg) e si replica solo in presenza dell'HBV, pertanto non è in grado di stabilire un'infezione autonoma (virus difettivo).

A causa di questa complementarietà, l'infezione da HDV avviene solo in pazienti infettati da HBV (*coinfezione*).

Soggetti che siano protetti da anticorpi anti-HBs sono immuni all'infezione HDV, mentre i portatori cronici di HBV sono suscettibili al contagio con HDV (*sovra infezione*).

In questi pazienti la sovra infezione può simulare una recrudescenza della malattia da HBV, inoltre negli

HBV infetti ed asintomatici, una infezione da HDV può trarre in inganno facendo diagnosticare una epatite non-B.

La presenza di superinfezione da HDV in pazienti HBV cronici aumenta il rischio di sviluppare cirrosi epatica.

Inoltre HDV può inibire, nel suo ciclo replicativo la replicazione di HBV fino a neutralizzarne transitoriamente i markers.

La via di trasmissione più frequente è quella parenterale, meno diffusa è quella per contatti interpersonali.

La vaccinazione per l'HBV copre da una eventuale infezione da HDV.

DIAGNOSI

Marcatori di infezione

1) Determinazione diretta del

virus mediante identificazione del genoma virale dopo amplificazione (RT-PCR). Utile nei pazienti con infezione cronica e per il follow-up del trattamento

2) Determinazione dell'HDAg, la cui positività indica infezione in atto

3) Determinazione degli anticorpi anti-HDV

IgM anti-HDV, correlano con l'espressione dell'HDV e quindi sono il marcatore dell'infezione

Ig TOTALI anti-HDV, prevalentemente di classe G, scarsamente protettivi, sono presenti a titolo elevato nelle infezioni croniche.

I profili sierologici dell'infezione HDV andrebbero descritti in associazione a quelli HBV.

EPATITE E

L'agente virale **HEV**, presenta un genoma RNA a catena singola e mostra significative differenze a seconda dell'area di provenienza.

La principale via di trasmissione è quella oro-fecale, il periodo di incubazione varia tra i 15-60 giorni e la malattia è per lo più asintomatica. Non sono ancora stati segnalati casi di epatite cronica.

E' diffusa soprattutto nel continente Asiatico.

Il virus viene escreto nelle feci circa 4 settimane dopo l'infezione e persiste per circa 2 settimane.

Il virus è stato causa di morte in un'alta percentuale di donne in gravidanza, in sud Asia.

Non esistono al momento vaccini.

DIAGNOSI

Marcatori di infezione

1) Determinazione diretta del virus nelle feci e/o nel sangue.

La tecnica più agevole è quella dell'identificazione del genoma virale dopo amplificazione (RT-PCR).

2) Determinazione degli anticorpi anti-HEV

IgM anti-HEV, presenti fin dall'esordio durano alcuni mesi.

IgG anti-HEV raggiungono titoli elevati in pochi mesi e durano tutta la vita.

EPATITE G

E' un virus a RNA, strutturalmente simile all'HCV.

Può causare un innalzamento delle ALT, e persistere per molti anni, ma non esistono evidenze che possa dare epatite cronica.

Si trasmette per via parenterale. Non sono conosciute altre vie di trasmissione.

DIAGNOSI

Marcatori di infezione

L'unico modo per determinare l'infezione, è data dalla

1) Determinazione diretta del virus nel sangue, mediante amplificazione (PCR).

Dr. A. Gironi

Direttore Generale CAM

TECNICHE di BIOLOGIA MOLECOLARE: PCR (Polymerase Chain Reaction)

Al fine di ottenere tecniche diagnostiche ad elevata sensibilità e specificità, sono state messe a punto tecniche di biologia molecolare, che sfruttano le caratteristiche degli acidi nucleici (DNA o RNA). La PCR è quella ampiamente utilizzata nella diagnostica microbiologica, perchè permette di rilevare direttamente la presenza del microrganismo, virus o batterio, nel campione in esame, identificandone il genoma.

La PCR permette l'amplificazione in vitro del DNA. Si suddivide in 3 fasi: denaturation, annealing ed extension, che vengono ripetuti per 30-40 cicli. Nella denaturazione, che avviene a circa 95 °C, le due eliche di DNA complementari si separano.

Successivamente, si abbassa la temperatura tra i 40-60 °C, e nella fase di annealing, due frammenti di DNA sintetico (primers) si appaiono alle regioni complementari, in modo da permettere all'enzima DNA polimerasi di sintetizzare le due eliche opposte, a partire da ciascun primer.

Nella fase di estensione poiché ad ogni ciclo le molecole di DNA raddoppiano, dopo 30 cicli si ottengono circa un miliardo di molecole, che possono essere così rilevabili.

Le reazioni di PCR vengono effettuate da uno strumento programmabile chiamato thermal-cycler. Dopo la reazione di PCR, generalmente viene eseguita una elettroforesi su gel di agarosio, per visualizzare il risultato.

Nel caso in cui il genoma da ricercare sia RNA, prima della PCR si deve effettuare una retrotrascrizione, cioè una reazione in cui l'RNA viene trascritto in DNA complementare (cDNA) ad opera di un enzima chiamato reverse transcriptasi (RT).

Centro Analisi Monza

MONZA:

Laboratorio analisi, piazza Trento e Trieste, 11 (tel. 039239750)

Centro polidiagnostico, via Missori, 9 (tel. 0392397.1)

Sezione ecologia, via Missori, 12 (tel. 0392397247)

BRESSO: via XXV Aprile, 16 (tel. 026104946)

CESANO MADERNO: via Como, 6 (tel. 0362540550)

DESIO: via Pozzo Antico, 24 (tel. 0362623156)

SEREGNO: piazza Risorgimento, 21 (tel. 0362234251)

VAREDO: via Italia angolo S. Aquilino (tel. 0362582945)

VILLASANTA: piazza Giovanni XXIII, 12 (tel. 039302366)