

la quantificazione del DNA virale e degli mRNA.

Nel laboratorio diagnostico i saggi di PCR impiegati utilizzano prevalentemente coppie di primer "di consenso" che consentono l'amplificazione di sequenze genomiche di molteplici genotipi di HPV. La maggior parte dei primer di consenso utilizzati nella diagnosi di infezione da HPV sono localizzati nelle regioni L1 ed E6/E7 del genoma degli HPV, essendo entrambe le regioni altamente conservate. I prodotti di PCR ottenuti con i primer di consenso vengono poi generalmente ibridati con sonde oligonucleotidiche tipospecifiche che oltre ad aumentare la sensibilità del metodo sono in grado di definire il genotipo virale.

Lo sviluppo di tecniche di PCR real-time quantitativa ha consentito di ampliare considerevolmente la rilevanza diagnostica della presenza di acidi nucleici virali in un campione clinico, una genotipizzazione è possibile sia utilizzando primer specifici sia sonde genotipo-specifiche. Una PCR real-time quantitativa è in grado di fornire informazioni sulla presenza e tipizzazione del DNA virale e sulla carica virale. Inoltre mediante analisi quantitativa del rapporto numerico tra i geni E2/E6 è possibile determinare lo stato fisico del DNA di HPV, differenziando lo stato episomale rispetto allo stato integrato, indicativo di progressione neoplastica della lesione. L'analisi dei trascritti di E6/E7 si è rivelata inoltre uno strumento utile per definire la persistenza e l'espressione delle infezioni da HPV ad alto rischio e quindi per identificare pazienti a rischio di progressione di malattia.

Concludendo quindi abbiamo a disposizione tecniche molecolari raffinate che ci permettono di diagnosticare non solo la presenza di HPV ad alto rischio oncogeno nel campione in esame, ma mediante lo studio della carica virale, dello stato fisico e dell'espressione dei mRNA ci possono fornire informazioni sulla possibile evoluzione della malattia.

---

## S4.5

---

### INFEZIONI DEL VIRUS BK NEL TRATTO URINARIO

**Corallini A.**

*Sezione di Microbiologia, Dipartimento di Medicina Sperimentale e Diagnostica, Università degli Studi, Ferrara*

Il virus BK (VBK), un papovavirus umano, è stato isolato per la prima volta nel 1971 da un paziente che aveva sviluppato una stenosi dell'uretere dopo un trapianto renale.

In seguito altri isolamenti del virus sono stati fatti da individui immunosoppressi a seguito di un trapianto renale o di midollo osseo. Indagini sierologiche hanno dimostrato che il virus è distribuito in tutto il mondo e la prima infezione si manifesta già nella prima età: a

tre anni il 50% dei bambini ha anticorpi contro il VBK e la percentuale di individui positivi raggiunge il 90% negli adulti. L'infezione primaria è di solito asintomatica e solo occasionalmente può essere accompagnata da una moderata infezione delle vie respiratorie o del tratto urinario. Durante l'infezione primaria si manifesta una viremia e il virus si diffonde in diversi organi, dove rimane in uno stadio di latenza.

Studi clinici, realizzati in individui immunosoppressi e immunocompetenti, indicano che la riattivazione di VBK dalla latenza è associata soprattutto con un stato di immunodeficienza immunologica. Con diverse tecniche di analisi è stato osservato che il rene rappresenta il principale sito di latenza del virus in individui sani, anche se sequenze virali sono state trovate in altri organi, quali il fegato, lo stomaco, i polmoni e i linfonodi. Poco è conosciuto circa la modalità di trasmissione del virus e di accesso ai tessuti, anche se l'infezione delle prime vie respiratorie durante il primo contatto con il virus e la presenza di DNA virale nelle tonsille indicano che la via di trasmissione più probabile possa essere quella orale.

La riattivazione di VBK è stata osservata nelle urine di individui immunosoppressi a seguito di un trapianto di rene o di midollo osseo, nelle urine di donne gravide e in pazienti con immunodeficienza ereditaria o acquisita. Tale riattivazione può indurre manifestazioni infiammatorie, che colpiscono diversi organi. In particolare è stato osservato che trapiantati renali hanno manifestato una nefrite (2,5%), una occlusione dell'uretere (72%) e in alcuni casi il rigetto dell'organo. Inoltre è stata descritta un'associazione fra cistite emorragica e VBK in pazienti che hanno ricevuto il trapianto del midollo osseo. Così pure diversi ricercatori hanno descritto gravi disfunzioni in pazienti che, a seguito di un trapianto renale, hanno manifestato una necrosi dei tubuli renali a causa di una ampia replicazione di VBK nell'epitelio degli stessi tubuli.

---

## S4.6

---

### INFEZIONE DA CITOMEGALOVIRUS: IMPLICAZIONI CLINICO-DIAGNOSTICHE

**Lazzarotto T., Landini M.P.**

*U.O. di Microbiologia, Laboratorio di Virologia, Policlinico S.Orsola Malpighi, Università degli Studi di Bologna, Bologna.*

Il Citomegalovirus umano (CMV) è un *Betaherpesvirus* responsabile di infezioni endemiche ed ubiquitarie. Nel corso dell'esistenza dal 40 all'80% degli individui nei Paesi industrializzati e la quasi totalità degli individui nei Paesi in via di sviluppo, va incontro ad infezione da CMV.

L'infezione è così diffusa perché la propagazione del virus è favorita dalla sua eliminazione che può prolungarsi per periodi molto lunghi e dal fatto che la maggior parte delle infezioni decorre in modo asintomatico o paucisintomatico, compatibile, quindi, con una normale vita di relazione del soggetto infetto.

L'analisi istopatologica del materiale autoptico da pazienti con infezione da CMV ha dimostrato che virtualmente ogni organo può essere infettato da questo virus. Inoltre, la ricerca del virus in coltura ha dimostrato che durante un'infezione acuta tutti i tipi di secrezione possono contenere il virus. Sembra, quindi, che CMV sia riuscito ad acquisire nel corso dell'evoluzione una capacità non comune di interagire in modo molto eclettico con il suo ospite naturale.

Le caratteristiche più importanti del tropismo di CMV sono:

- 1) la capacità di infettare e replicarsi in cellule distribuite ubiquitariamente come le cellule epiteliali ed endoteliali che occupano una posizione strategica per la disseminazione e la diffusione del virus;
- 2) la capacità di infettare e replicarsi in cellule del tessuto connettivo ubiquitariamente distribuite nello stroma di vari organi, come i fibroblasti;
- 3) la capacità di infettare i leucociti del sangue periferico;
- 4) la capacità di infettare e replicarsi in vari tipi di cellule parenchimali specializzate come i neuroni, le cellule muscolari lisce e gli epatociti, a volte causando un consistente effetto citopatico.

Contrariamente a ciò che si osserva *in vitro* in cui la replicazione di CMV nelle cellule epiteliali è scarsa o completamente assente, durante l'infezione *in vivo* queste cellule sembrano molto suscettibili all'infezione e sono di notevole importanza strategica. Infatti, poiché gli strati epiteliali del tratto respiratorio, del tratto gastrointestinale e genito-urinario formano l'interfaccia tra l'organismo infettato e l'ambiente esterno, essi sono siti importanti sia per l'ingresso del virus nell'ospite che per l'eliminazione del virus attraverso le secrezioni corporee. L'eliminazione del virus avviene nel lume del rispettivo organo sia sotto forma di virus libero perché rilasciato dalle cellule epiteliali infettate, sia sotto forma di cellule epiteliali infettate visto che l'infezione ne favorisce il distacco.

Il rene rappresenta è uno dei siti più frequenti di infezione da CMV. Nel rene, il virus può infettare sia l'epitelio glomerulare che tubulare. Le cellule giganti sono caratteristicamente associate ad un infiltrato cellulare interstiziale. Agglomerati imponenti di cellule giganti possono riempire i tubuli prossimali vicino alle aree corticali. Possono essere anche presenti nell'ansa di Henle e nel tubulo collettore e, più raramente, nei glomeruli. L'infezione si accompagna ad una fase di viruria persistente che però di norma, non disturba la funzionalità renale.