

relazioni

SESSIONE 9

Determinazioni quantitative in virologia: in laboratorio e nel paziente

Venerdì 14 ottobre 2005, ore 09.00 - 13.00, Sala D

S9.2

I METODI DI VALUTAZIONE QUANTITATIVA DELLE PARTICELLE VIRALI E DELL'INFETTIVITÀ: APPLICAZIONI SPERIMENTALI E RIFLESSI DIAGNOSTICI

Arcangeletti M.C.

*Sezione di Microbiologia - Dipartimento di Patologia e
Medicina di Laboratorio - Università degli Studi di Parma.
Viale Antonio Gramsci, 14. 43100 Parma.*

I metodi di valutazione quantitativa dei virus rappre-

sentano strumenti utili sia dal punto di vista sperimentale, che per le possibili applicazioni in campo diagnostico. Questi procedimenti sfruttano differenti caratteristiche dei virus ed hanno di conseguenza significati e ricadute applicative diverse.

Nell'ambito dei metodi fisici e chimici, il più usuale prevede la conta di virus al microscopio elettronico, per confronto con microsfele di latex a concentrazione nota; è evidente come questo metodo non tenga conto delle proprietà infettanti dei virioni. Analogamente, l'emoagglutinazione, che sfrutta la capacità di alcune categorie di virus di legarsi a complessi recettoriali presenti anche sulla membrana di eritrociti, rappresenta un metodo utile, anche se non molto sensibile, per la titolazione dei suddetti virus, fornendo però una stima approssimativa sia di particelle virali complete, ovvero infettanti, che di quelle incomplete.

I metodi di valutazione quantitativa dell'infettività virale sono sicuramente i più efficaci per determinare la quantità di particelle virali complete in una sospensione virale o in un campione biologico. Nello specifico, il metodo delle placche è di gran lunga il più accurato e riproducibile; altro metodo basato sulla valutazione dell'infettività virale, anche se meno preciso del precedente, è quello della diluizione limite, volto a determinare il numero di dosi virali infettanti il 50% dei substrati cellulari utilizzati (TCID₅₀), spesso impiegato ai fini diagnostici per la titolazione di virus da identificare successivamente mediante prove di neutralizzazione dell'infettività virale.

Anche gli studi delle interazioni virus-cellula a livello molecolare hanno trovato, nel corso degli ultimi anni, sempre più vasti spazi applicativi nell'ambito della diagnostica virologica. La carica virale può infatti essere desunta attraverso la determinazione quantitativa di acidi nucleici virus-specifici, in particolare dei trascritti virali, mediante l'applicazione di tecniche di biologia molecolare, soprattutto quelle basate sull'uso della reazione polimerasica a catena (PCR). La messa a punto di metodi quali "Real-Time PCR" ha reso possibile una più appropriata standardizzazione e riproducibilità dell'approccio quantitativo, favorendone l'utilizzo per la valutazione della carica virale in diversi campioni biologici ai fini diagnostici e quale indice prognostico dell'efficacia di terapie anti-virali.
