

infezione cronica da HBV. Sulla base delle evidenze clinico-epidemiologiche, la rivelazione dell'RNA di HDV (HDV-RNA), mediante l'utilizzo di una semplice tecnica qualitativa RT-PCR, correlata ai dati sierologici (Ab totali e IgM anti-delta), si svela di grande utilità nella diagnosi di coinfezione HBV/HDV, di superfezione da HDV e nelle infezioni asintomatiche e/o croniche da HDV.

Metodi: AmpliSens HDV 255 (commercializzato da Nuclear Laser Medicine srl) è un test per la rivelazione qualitativa di HDV in campioni di siero/plasma che si basa su quattro processi principali: 1) estrazione dell'RNA dal campione; 2) reazione di trascrizione inversa (RT) dell'RNA bersaglio per produrre DNA complementare (cDNA); 3) amplificazione del cDNA mediante PCR; 4) analisi elettroforetica dei prodotti amplificati su gel di agarosio al 2% (200mA per 45 minuti) e rivelazione dei risultati. La lunghezza del frammento amplificato di cDNA è di 255 pb per HDV e di 500pb per il controllo interno.

Risultati: su 70 campioni testati nel periodo compreso tra giugno 2003 e giugno 2005, 12 campioni sono risultati positivi per HDV-RNA. Questi ultimi provenivano da soggetti HBsAg-positivi e con segni evidenti di citolisi epatica (transaminasi sieriche elevate). 11 (91.6%) di questi campioni, avevano mostrato livelli detectabili di anticorpi totali anti-delta (Δ tot), di cui 9 (75%) erano risultati contemporaneamente positivi per gli anticorpi IgM anti-delta (Δ IgM). Solo 1 dei 12 campioni HDV-RNA-positivi era risultato completamente negativo per gli anticorpi Δ tot e Δ IgM. Test di specificità sono stati eseguiti mediante l'allestimento di pannelli di sieri (24 campioni) provenienti da soggetti negativi per Δ tot e Δ IgM ed altrettanti campioni provenienti da soggetti con coinfezione da HBV e HCV.

Conclusioni: la rivelazione dell'HDV-RNA rappresenta un importante parametro per la diagnosi di replicazione virale anche nei casi in cui il pattern della risposta anticorpale specifica mostra dei dubbi. Nella nostra esperienza, la presenza dell'HDV-RNA ha mostrato una buona correlazione con segni di progressione del danno epatico. Inoltre, questa tecnica di RT-PCR si adatta facilmente alla routine di un laboratorio di microbiologia e permette la valutazione di un sufficiente numero di campioni.

116

RIVELAZIONE DELL'RNA DEL VIRUS DELL'EPATITE DELTA (HDV) MEDIANTE TECNICA RT-PCR.

Giuliani G., Bonaccorso C., Drago L., Lombardi A., Bartolone R., Calvagna N., Fiori L., Musardo P., Gismondo MR.

Laboratorio di Microbiologia, Azienda Ospedaliera - Polo Universitario "Ospedale L. Sacco", Via GB Grassi, 74 - 20157 Milano.

Introduzione.

HDV è un virus difettivo ad RNA che richiede la presenza dell'antigene di superficie (HBsAg) di HBV per la trasmissione. HDV gioca un ruolo fondamentale nelle epatiti fulminanti e nella progressione del danno epatico in pazienti con