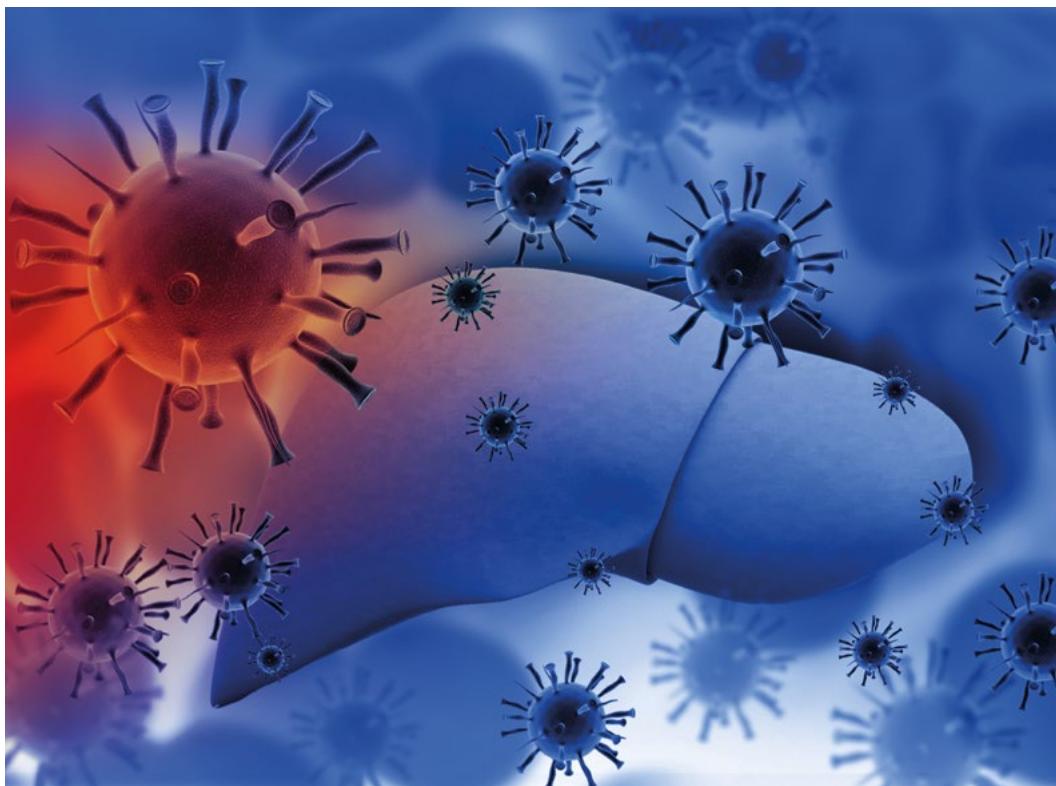


EPATITE B OCCULTA

Mario Pezzella - Rossella Castrica



La prima tappa della identificazione del virus dell'epatite B è stata nel 1963 quando B.S. Blumberg a New York scoprì che il siero di un malato australiano di emofilia conteneva un anticorpo capace di reagire in vitro con un antigene presente nel sangue di un aborigeno australiano. Blumberg si impegnò in un lungo studio per identificare il suddetto antigene inizialmente denominato "antigene Australia".

Nel 1968, per opera degli studi condotti dallo stesso Blumberg e da Prince fu chiaramente dimostrato che il suddetto antigene era l'antigene di superficie del virus dell'e-

patite B. Nel 1976 Blumberg ebbe il premio Nobel per questa scoperta.

La scoperta dell'antigene associato all'epatite ha aperto la strada alla piena identificazione del virus dell'epatite B (HBV Hepatitis B Virus).

HBV è un virus a DNA di 42 nm di diametro con struttura a doppia elica incompleta che presenta vari antigeni, di cui il primo è denominato HBs Ag, antigene di superficie dell'epatite B, sintetizzato nel citoplasma delle cellule epatiche. Un secondo antigene, denominato HBcAg non è rilevabile libero nel plasma ma nei nuclei delle cellule epa-

tiche. Un terzo antigene, denominato HBe Ag, è stato dimostrato presente nel plasma e strettamente correlato alla presenza di particelle virali complete. Quando sono presenti, la persona infetta risponde con la formazione di anticorpi specifici, anti-HBs, anti-HBe, anti-HBc. Dalle conoscenze sul virus dell'epatite B deriva la circolare del Ministero della Sanità n.68 del 24.07.1978 in cui veniva precisato che il sangue e gli emoderivati ottenuti per frazionamento del plasma, devono essere preparati esclusivamente da ogni singola unità di plasma risultata negativa alla ricerca dell'HBsAg. Successivamente la legge n. 165 del 27 maggio 1991 obbligava la vaccinazione contro l'epatite virale B, gratuita, *“al fine di prevenire l'insorgere e la diffusione dell'epatite virale B, per tutti i nuovi nati nel primo anno di vita estendendo l'obbligo di vaccinazione a tutti i cittadini stranieri residenti o, comunque, con stabile dimora nel territorio nazionale”*

Qualcosa di occulto non fa tornare i conti

Dalle osservazioni del ciclo di replicazione del virus HBV appariva sempre più evidente un particolare tipo di infezione che non rispondeva ai canoni conosciuti e presentava caratteristiche decisamente uniche tali da indurre l'osservazione scientifica a individuare un nuovo tipo di epatite B definita “oculta”, dal momento che non era più realistico ritenere che l'infezione da HBV potesse essere diagnosticata solo quando nel sangue fosse rilevabile l'antigene HBsAg.

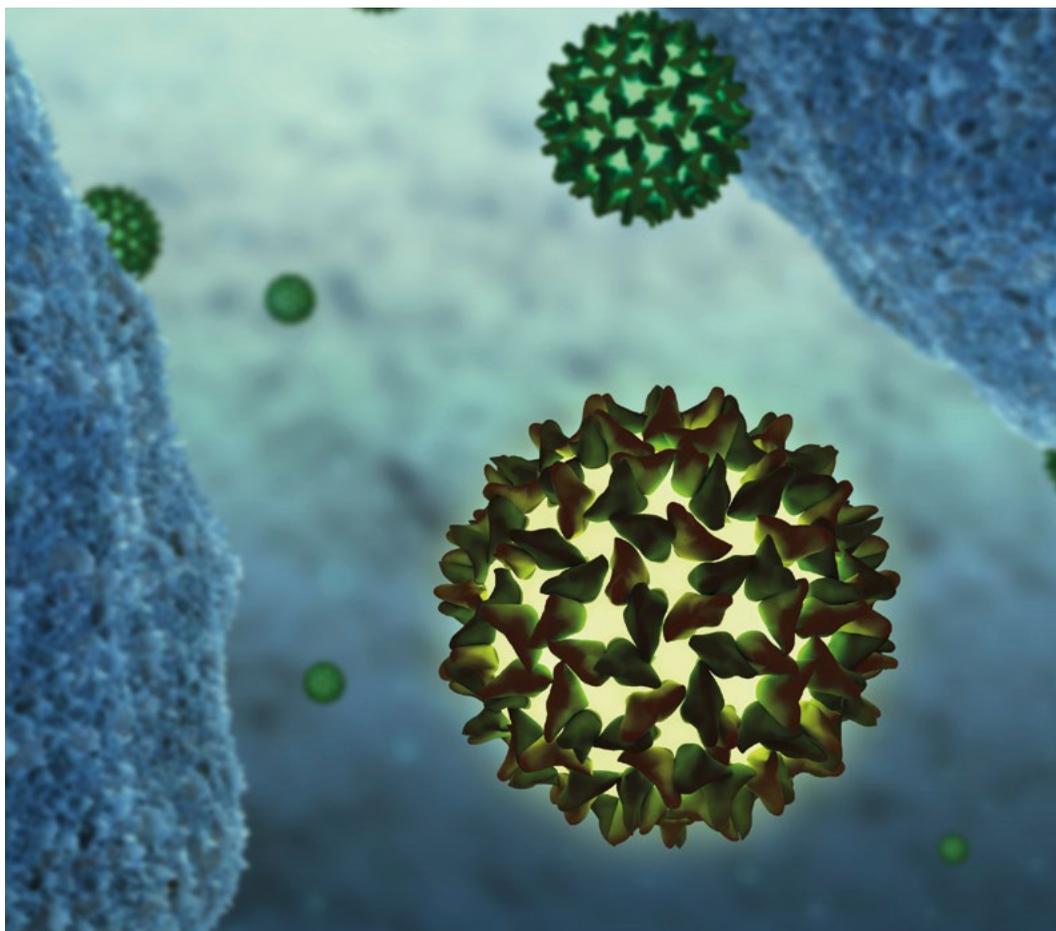
Nel 2008 a Taormina si è tenuto un convegno scientifico internazionale dal titolo

“Statements from the Taormina expert meeting on occult hepatitis B virus infection” allo scopo di puntualizzare i criteri di valutazione della infezione “oculta” da virus dell'epatite B. L'infezione definita “oculta” (OBI) è caratterizzata dalla persistente negatività per l'HBsAg sierico e dalla presenza nei nuclei degli epatociti del genoma virale dell'HBV nella forma molecolare intermedia del ciclo replicativo chiamata covalently closed circular (cccDNA HBV) costituita da una doppia elica completa, come un vero e proprio minicromosoma che funge da stampo per la trascrizione di tutti gli RNA virali. In genere, anche se in modo altalenante, l'HBV DNA è presente nel siero ad un basso livello, inferiore a 200IU/ml, in confronto con i livelli di $10^3 - 10^8$ che si rilevano generalmente nei soggetti HBsAg positivi.

Le basi molecolari dell'infezione occulta sono correlate al ciclo replicativo dell'HBV. Le ragioni per cui i portatori di infezione occulta sono HBsAg negativi possono dipendere da meccanismi ancora non ben individuati per cui la infezione occulta è ritenuta multifattoriale. Fra i diversi possibili meccanismi patogenetici più significativi la situazione di positività per HBV DNA e negatività per HBsAg può dipendere da una disregolazione del comportamento del sistema immunitario responsabile della inibizione dell'espressione genica dell'HBV al livello post-trascrizionale.

Il ruolo dell'immunità

Il comportamento corretto ed efficiente del sistema immunitario svolge un ruolo



lo fondamentale nella infezione da HBV. La risposta immunitaria vede infatti coinvolti i linfociti B, i linfociti T e i linfociti natural killer (NK) oltre alle cellule dendritiche. Entrambe le componenti sia umorale che cellulare della risposta immunitaria sono necessarie per la eliminazione di HBV.

Partecipano in modo significativo anche le citochine che vengono rilasciate dalle cellule attivate dal virus, le interleukine, il Tumor Necrosis Factor e l'Interferon α e γ ($\text{TNF}\alpha$ e $\text{INT}\alpha$ e γ).

Numerose evidenze mostrano in particolare che le due citochine, $\text{TNF}\alpha$ e $\text{INT}\gamma$,

potrebbero inibire fortemente l'espressione genica dell'HBV a livello post-trascrizionale e convalidano l'ipotesi di una inattivazione intracellulare dell'HBV cccDNA presente nel nucleo dell'epatocita infetto.

La sintesi di queste citochine, prodotte da cellule della linea monocito-macrofagica e natural killer, dipende dai T linfociti citotossici HBV specifici. È quindi concepibile che il virus possa stabilire spontaneamente una situazione di equilibrio con il sistema immunitario dell'ospite che mantiene la replicazione dell'HBV ad un basso livello.

Infine le cellule dendritiche (un altro ti-

po di cellula importante nel coinvolgimento della risposta immunitaria) hanno la capacità esclusiva di attivare e indirizzare le risposte immunitarie adattative dei linfociti T.

I linfociti T riconoscono gli antigeni del nucleo capsida virale (HBc e HBe) sulla superficie degli epatociti infetti e reagiscono. In conseguenza della reazione antigene-linfociti sensibilizzati si ha la neutralizzazione dell'antigene ma anche la necrosi degli epatociti sulla cui superficie i linfociti sensibilizzati hanno captato l'antigene.

Nel caso di un soggetto immunocompromesso l'infezione HBV occulta può essere dovuta alla disregolazione della risposta immunitaria nel suo complesso causata dallo stato di immunosoppressione cui segue una riattivazione con comparsa dell'HBsAg.

Le implicazioni pratiche

I soggetti sani (immunocompetenti) adulti con risposta immunitaria normale se infettati da HBV nel 90-95% riescono ad eliminare tutti gli epatociti infetti e risolvono l'infezione formando l'anticorpo anti-HBs con guarigione clinica. I motivi principali per cui il 5-10% rimangono cronici vanno visti tra ragioni principalmente riconducibili a comportamenti anomali del sistema immunitario ed in particolare nel difetto funzionale dei linfociti T citotossici.

È stato dimostrato che esistono due categorie di soggetti con infezione occulta:

- soggetti completamente negativi ai marcatori sierici di HBV;
- soggetti positivi al solo anti-HBc quale marcatore surrogato. La prevalenza di in-

fezione occulta da HBV è in genere più elevata nei pazienti anti-HBc positivi rispetto ai negativi.

Dal punto di vista epidemiologico l'epatite B occulta è presente in tutte le aree geografiche e la sua distribuzione riflette la generale prevalenza dell'infezione da HBV. La letteratura scientifica evidenzia che in generale tutte le categorie di pazienti a rischio di infezione a trasmissione parenterale (tossicodipendenti, emodializzati, politrasmusi ecc) sono considerati a rischio di epatite B occulta a causa della dipendenza dallo stato del sistema immunitario.

L'inibizione della replicazione dell'HBV può essere temporanea e reversibile e l'infezione occulta può essere riattivata esitando in una epatite acuta o in una severa forma di epatite B.

Le conoscenze scientifiche sull'epatite occulta si sono rivelate particolarmente utili sia sotto l'aspetto della medicina trasfusionale che quella clinica.

In particolare nello studio della epatite B post-trasfusionale era evidente una reale possibilità che qualcuna delle unità di plasma utilizzate potesse essere infetta da HBV. Fino al 2008 il fattore principale di rischio era considerato costituito dal "periodo finestra" cioè il tempo intercorrente tra l'infezione e la prima positività del saggio di riconoscimento dell'HBsAg.

Un individuo negativo per l'HBsAg veniva ritenuto idoneo a donare il sangue mentre un individuo positivo era ritenuto non idoneo alla donazione. Il rischio resi-

duo di trasmissione per HBV era attribuito al lungo intervallo di tempo tra l'infezione iniziale HBV ed il primo rilevamento dell'HBsAg durante il quale il virus è trasmissibile, pienamente infettante e non rilevabile con il test dell'HBsAg. La lunghezza di tempo della fase finestra per l'HBV, valutato con i metodi diagnostici in vigore, era piuttosto lungo e stimato in 59 giorni con un range che va da 37 a 87 giorni.

L'ausilio del laboratorio.

L'epatite occulta è stata oggetto di approfondimento nel corso degli ultimi 10 anni grazie alla introduzione di tecniche di biologia molecolare che hanno consentito la realizzazione di sistemi diagnostici di elevata specificità e sensibilità. Solamente dopo l'impiego della tecnica NAT (Nucleic Acid Testing) che utilizza la metodica della P.C.R. (Polimerase Chain Reaction), il periodo finestra è stato ridotto del 41% a 35 giorni.

Il Ministero della Salute, per ottenere un migliore livello di sicurezza trasfusionale raccomandava, nel marzo del 2008, l'estensione della tecnica NAT alla ricerca dell'HBV su tutto il territorio nazionale visto che alcune regioni e province autonome avevano già adottato o effettuato le procedure per una imminente introduzione del triplice test NAT (HIV, HCV, HBV).

La puntualizzazione delle conoscenze dell'infezione B occulta ha ulteriormente contribuito alla sicurezza trasfusionale in quanto è stata evidenziata la possibilità che un qualche donatore potesse essere affetto

da una infezione B occulta. Insieme con il periodo finestra l'epatite B occulta rappresenta attualmente la principale causa di epatite B post-trasfusionale

Tale osservazione riveste fondamentale importanza dal momento che la sicurezza virale di un emoderivato non viene solo basata esclusivamente sul risultato del controllo del prodotto finito ma, cosa ben più importante, viene basata sulla qualità del materiale di partenza ottenibile con adeguata selezione e screening dei donatori.

La medicina clinica

Dal punto di vista clinico OBI costituisce un argomento attuale di grande interesse essendo coinvolta nella riattivazione acuta della infezione epatica nei soggetti affetti da infezione B occulta. Il trattamento con agenti immunosoppressivi può portare alla riattivazione della epatite B. Tale situazione è verificata in tutti gli ambiti della medicina in cui viene fatto ricorso a terapie immunosoppressive che interferiscono con la risposta immunitaria.

Infatti l'immunodepressione iatrogena, effettuata in vari ambiti della medicina quali principalmente la reumatologia, la gastroenterologia, la dermatologia e l'oncoematologia, può favorire riacutizzazioni e riattivazioni dell'infezione in pazienti con infezione occulta.

La situazione clinica della riattivazione può essere molto variabile da forme asintomatiche con modesto incremento degli indici di citolisi epatica a forme fulminanti.

A tale proposito sono state redatte linee

guida per la profilassi della epatite B che raccomandano, come ampiamente descritto nella letteratura specialistica dell'ultimo decennio, la vaccinazione anti epatite B nei soggetti negativi per i marcatori sierologici di infezione da HBV prima dell'inizio della terapia immunosoppressiva.

Inoltre la tempestiva introduzione della profilassi antivirale nei pazienti in chemioterapia può rivelarsi essenziale per la prevenzione di un severo danno epatico. La persistenza del genoma cccDNA di HBV nei nuclei degli epatociti infetti anche dopo diversi anni dalla risoluzione della malattia, in concomitanza di un ridotto controllo immunologico, può essere responsabile della riattivazione della malattia.

Tra i nuovi farmaci il Rituximab costituito da un anticorpo monoclonale chi-

merico avente come bersaglio la proteina CD20 viene utilizzato nel trattamento del Linfoma non Hodgkin delle cellule B, nelle leucemie delle cellule B e in talune malattie autoimmuni. L'Infliximab, anch'esso monoclonale chimerico anti-TNF α , è usato per il trattamento di malattie autoimmuni quali l'artrite reumatoide, la colite ulcerosa e la malattia di Crohn.

Ambedue i farmaci vanno prescritti con particolari cautele in quanto interferendo con il sistema immunitario possono indurre un significativo danno epatico.

Molti aspetti dell'infezione occulta da HBV sono ancora oggetto di studio e di valutazione ma alcuni dati sono ormai consolidati, come il rischio di eventi clinici avversi causati dalle terapie immunosoppressive. ■

Bibliografia

1. Raimondo G. et al. "Statements from the Taormina expert on occult hepatitis B virus infection" *Journal of Hepatology* 49:652-657;2008
2. Brechot C et al "Persistent hepatitis B virus infection in subjects without hepatitis B surface antigen. Clinically significant or purely "occult" *Hepatology* 34:194-203; 2001 .
3. Candotti D., Allain JP. "Transfusion-transmitted hepatitis B infection" *Journal of Hepatology* 51:798-809;2009
4. Piazza M. "Epatite virale acuta e cronica" ed. Ghedini, 2005
5. Manzini P et al. "Italian blood donors with anti-HBc and occult B virus infection" *Haematologica* 92:1664-70; 2007).
6. Sagnelli C et al. "Occult HBV infection in the oncohematological setting" *Infection* 2016 Apr 13. [Epub ahead of print]
7. Javier Martinez Gonzales et al. "Diagnosis and management of occult hepatitis B virus infection: a short review » *EMV Hepatol* 3 :63-69 ; 2015