

LE EPATITI VIRALI NEL TOSSICODIPENDENTE

Gian Paolo Perini (1), Renzo Montanari (2), Massimo Casaril (3), Maurizio Gomma (1),
Oliviero Bosco (1), Giovanni Serpelloni(1)

(1) *Sezione di Screening HIV - Gruppo C - ULSS 20 Verona*

(2) *Divisione di Medicina - Sezione di Gastroenterologia - Ospedale S.Cuore Negrar - Verona*

(3) *Istituto di Patologia Medica, Cattedra di Medicina Interna - Facoltà di Medicina e Chirurgia, Università degli Studi di Verona*

PREMESSE

A oltre dieci anni dall'arrivo di HIV, i virus epatitici assieme al virus dell'AIDS continuano a sostenere la maggior parte dell'attività clinica del medico che si occupa di tossicodipendenze. Per quanto l'epatite virale abbia per certi versi superato, negli ultimi anni, il confine di patologia indice della tossicodipendenza, tuttavia continua a rappresentare in questa popolazione la principale patologia infettiva e gode ancora di una grossa potenzialità di diffusione epidemica.

Diversi virus immunologicamente non correlati sostengono l'epatite virale: virus A (HAV), virus B (HBV), virus Delta (HDV), virus nonA-nonB (NANB), virus C (HCV), virus E (HEV) e, recentissimo, anche il virus F capace di determinare una rara forma fulminante (1). I quadri clinici che ne esitano sono spesso indistinguibili tra loro. Accanto a questi virus altri possono sostenere quadri di epatite di differente entità (Citomegalovirus, Epstein Barr virus, Coxsackie virus, Herpes virus, virus della parotite e della rosolia).

Tutti i virus responsabili di epatiti sono stati individuati negli ultimi trent'anni.

Dopo la scoperta di Ag Australia nel 1965 (2) si inquadrarono due differenti entità nosologiche: epatite A (Ag Au negativa) ed epatite B (Ag Au positiva) (3). La dimostrazione di Carbossipeptidasi A (4) inibitore intestinale di HBV (5), escluse, la possibilità di trasmissione orofecale di questo virus e il concetto di via parenterale inapparente chiari in modo definitivo le dinamiche di contatto con HBV.

La dimostrazione di anticorpi specifici contro HAV nel 1976 (6) evidenziò che solo una parte delle forme HBsAg negative era HAV positiva. Fu introdotta l'epatite NANB come terza forma nosologica per inquadrare le epatiti sierologicamente negative ad HAV e ad HBV ma passeranno ancora quindici anni prima che la scoperta di HCV e dei suoi

Le epatiti virali nel tossicodipendente

anticorpi specifici permetta una diagnosi diretta.

Nel 1977 fu isolato HDV (7) e nel 1983 HEV, responsabile di una forma di epatite NANB epidemica a trasmissione enterica (8-10). Nel 1989 è stato clonato e caratterizzato il genoma di HCV agente etiologico della maggior parte delle epatiti NANB (11).

Rimane aperto il problema di meno di un 10% di epatiti NANB a trasmissione parenterale e orofecale negative ai marker virali oggi disponibili (12).

Negli ultimi anni si sono raggiunti due importanti traguardi: la vaccinazione contro l'epatite B obbligatoria per legge in Italia ai nuovi nati (13,14) e l'uso dell'interferone, in grado di modificare la storia naturale di una parte delle epatiti virali (15).

EPIDEMIOLOGIA

Esistono variazioni regionali e notevoli differenze nella diffusione dell'epidemia da virus epatitici. Tra i tossicodipendenti lo scambio di siringhe e l'attività sessuale non protetta, spesso accompagnata da prostituzione, mantengono attivo il serbatoio virale.

La vaccinazione contro l'epatite B e i grandi interventi di sanità pubblica, primo tra tutti l'introduzione degli aghi a perdere, assieme alle campagne per l'uso del profilattico nella prevenzione delle MTS, hanno modificato in modo sostanziale l'epidemiologia delle epatiti virali anche se continuano ad esistere realtà locali che devono essere affrontate con strategie specifiche.

Negli Stati Uniti ad esempio, nell'ultimo decennio l'incidenza di epatite B è progressivamente aumentata nonostante la disponibilità dal 1982 del vaccino. Si è osservato un dimezzamento della percentuale di omosessuali HBV positivi, un raddoppio dei casi tra i tossicodipendenti e un contemporaneo aumento tra gli eterosessuali (16). Tutto ciò riflette, anche per l'arrivo di HIV, la rapida modificazione comportamentale tra gli omosessuali mentre lo stesso pare non sia avvenuto tra eterosessuali e tossicodipendenti. Noi abbiamo osservato come campagne preventive volte a combattere lo scambio di siringhe e a favorire l'uso del profilattico, attivate tra gli utenti del nostro SerT, hanno dato una ricaduta positiva non solo sulla diffusione delle epatiti ma anche dell'infezione da HIV (17).

Nel nostro paese circa l'85% delle epatiti croniche è sostenuta da virus epatitici, l'11% ha etiologia alcolica e il 4% ha etiologia autoimmune (18).

Le epatiti a trasmissione orofecale più rare ed autolimitantesi, non sono mai completamente scomparse tra i nostri pazienti.

L'epatite A è una patologia di ritorno e attualmente in Italia sostiene 1/3 delle epatiti acute (19). Nella popolazione giovanile italiana si è osservata nell'ultimo decennio una notevole diminuzione della circolazione virale e ciò porta ad una quota crescente di adulti suscettibili all'infezione. Tale dato è particolarmente evidente nel Nord Italia

mentre al Sud l'immunità è ben rappresentata sia tra gli adulti che tra i giovani. Nelle aree ad alta endemia i tossicodipendenti hanno prevalenze di anti HAV sovrapponibili alla popolazione generale compatibile per età e condizioni sociali, al contrario, in zone ove HAV è poco diffuso l'epatite A è molto più frequente tra i tossicodipendenti rispetto alla popolazione generale (20). L'imminente ingresso in Italia di un vaccino preparato con virus intero inattivato, già disponibile in altri stati europei, dovrebbe ulteriormente limitare il diffondersi dell'infezione (21).

Anche HEV (22) segnalato in forme epidemiche in India, Africa, America ed Asia ha fatto la sua comparsa da poco tempo anche in Europa con prevalenze dell'1.3% (23). In Italia un recente studio dimostra prevalenze che vanno dallo 0.95% tra i donatori di sangue a quasi il 2% tra i tossicodipendenti (24). Il contagio avviene attraverso il circuito oro-fecale ma è stata dimostrata anche una possibile trasmissione per via parenterale (23). HEV sostiene una forma acuta autolimitantesi con decorso benigno ad eccezione dell'infezione acquisita in gravidanza che può essere letale (8-10).

1. Epatite B

L'OMS stima che globalmente 2 miliardi di persone siano state colpite dall'infezione da HBV ed esistano a livello mondiale 350 milioni di portatori di infezione cronica. Il tasso di mortalità è stimabile tra 1 e 2 milioni di persone/anno (25). La prevalenza è dello 0,1-0,5% nei Paesi ad elevato livello socio-economico ed arriva fino al 20% nei Paesi sottosviluppati e nel Sud-Est Asiatico ove si osserva anche una elevata incidenza di epatocarcinoma (20,26). In alcuni paesi più del 70% della popolazione di età maggiore ai 40 anni evidenzia segni sierologici di precedente infezione (27).

In Italia con una prevalenza del 2.4 % l'infezione da HBV è un problema dai pesanti risvolti sociali: i portatori di HBsAg sono oltre 1,5 milioni e ogni anno si hanno almeno 200.000 nuovi casi con 8.000 decessi legati a cirrosi ed epatocarcinoma (20). La media nazionale risulta da tassi diversi, elevati nel meridione (fino al 10% nell'area napoletana) e bassi nella maggior parte del settentrione (meno del 0,5%) (28).

Uno studio americano ha dimostrato che il 90% dei tossicodipendenti che hanno usato per più di due anni droghe per via endovenosa presenta marcatori di infezione da HBV (29). Il frequente stato di immunocompromissione del tossicomane aumenta il rischio di cronicizzazione con conseguente persistenza del serbatoio virale (30).

2. Epatite Delta

Nel mondo non meno del 15% dei portatori cronici di epatite B sono anche portatori di HDV. La presenza del virus è ubiquitaria ed è iperendemica nei paesi tropicali e subtropicali. In Occidente la diffusione di HDV ha raggiunto livelli significativi in alcune

Le epatiti virali nel tossicodipendente

aree urbane dove la presenza di tossicodipendenti è particolarmente elevata. In Italia dal 1987 la prevalenza è in regressione nel Nord (9%) ove è principalmente legata alla tossicodipendenza; nel Sud invece il decremento è stato meno evidente (18%) ed HDV è tuttora endemico tra i portatori di HBsAg (20) (31).

3. Epatite C

La prevalenza di HCV a livello mondiale è compresa tra 0.5% e 2-6% con un numero stimato di portatori cronici superiore a 100 milioni (32).

In Italia HCV sostiene il 19% dei casi annui di epatite ed era responsabile di epatiti postrasfusionali nel 10% dei trasfusi in epoca presierologica (33). Lo screening sui donatori di sangue ha fatto precipitare il tasso di epatite C post trasfusionale al 3-5% (34). Da studi di sieroprevalenza in Italia emerge che tra lo 0.7% e l'1.4% della popolazione adulta è portatrice di infezione cronica da HCV mentre le prevalenze arrivano al 2-4 % nella fascia di età più avanzata (33). I portatori di epatite C in Italia sarebbero 1.700.000 (35) e l'infezione segue ancora una volta un gradiente Nord-Sud con maggior prevalenza nelle regioni meridionali (36).

La popolazione tossicodipendente nel nostro Paese risulta HCV positiva dal 48% all'85% (33,37).

L'infezione cronica da HCV è responsabile del 70-80% delle epatiti croniche cripto-genetiche.

E' ormai chiaro il ruolo di HCV come cofattore del carcinoma epatico. A livello mondiale circa 1 milione di casi/anno di epatocarcinoma associato a cirrosi si sviluppa in pazienti anti-HCV positivi (38,39). In Italia HCV sarebbe correlato a 1500-6000 casi/anno di epatocarcinoma (40).

La trasmissione verticale è rara e sembra più facile se la madre è coinfecta HCV/HIV (41).

La trasmissione per via sessuale è controversa ma ben dimostrata con prevalenze in Italia del 10% tra i partner di soggetti con epatopatia cronica di tipo C (33,42-44).

Un numero importante di infezioni è sostenuto da casi di contatto inapparente acquisiti in comunità e l'importanza epidemiologica di tali forme pare sempre più rilevante (33,45).

I VIRUS EPATITICI MAGGIORI: HBV, HCV E HDV

Ci limiteremo a trattare dei virus epatitici maggiori (HBV, HCV e HDV) per l'importanza epidemiologica e il peso clinico che hanno tra la popolazione tossicodipendente.

1. HBV

a. Caratteristiche virologiche

HBV è una particella sferica del diametro di 42nm della famiglia degli Hepadnaviridae. E' costituita da un involucro esterno (HBsAg) che avvolge un nucleo centrale contenente l'acido nucleico (HBV - DNA), l'HBcAg, l'HBsAg e la DNA polimerasi (46). Sono presenti anche particelle sferiche di 22nm di diametro e forme a bastoncino di 40-400 nm di lunghezza dovute ad un eccesso di sintesi proteica durante la formazione del virus completo (47).

Il genoma è costituito da DNA circolare associato alla DNA polimerasi virus specifica ed è formato da una catena a polarità negativa L (-) e da una a polarità positiva S (+). L'analisi dell'HBV-DNA (12) rivela 4 sequenze geniche sulla catena L (-): il gene S che codifica per HBsAg, il gene C che codifica per HBcAg, il prodotto di sintesi della regione P è la DNA polimerasi di HBV, infine la regione X, con funzione ancora sconosciuta, che codifica per un peptide di circa 150 aminoacidi (48) che può potenziare la replicazione di HBV (49) e partecipare all'epatocarcinogenesi (50).

Nel gene S sono identificate tre frazioni: pre-S1, pre-S2 ed S. Nella regione pre-S2 è stato presente il gene che codifica una proteina recettoriale per l'albumina polimerizzata che sembra fungere da ponte fra HBV e la superficie cellulare permettendo l'adesione del virus alla cellula (51). Anche il prodotto della regione pre-S1 è in grado di legarsi alla membrana dell'epatocita ed è probabilmente coinvolto nella captazione virale.

HBcAg, antigene del nucleocapside altamente immunogeno, è presente nel fegato dei soggetti infettati. La risposta immunitaria all'HBcAg svolge un ruolo fondamentale nell'eliminazione virale. Non essendo secretorio HBcAg non è presente nel sangue ove è presente un suo componente solubile HBeAg la cui secrezione in circolo è regolata dalla regione "pre- C"(58).

Entrato nella cellula per endocitosi e liberato dal suo rivestimento il virus subisce il completamento del tratto a singola elica del DNA con conversione in DNA chiuso e trascrizione di un'elica di questo in RNA a singola elica. L'RNA a singola elica in parte resta nel nucleo dove è utilizzato come modello per la trascrittasi inversa e in parte migra nel citoplasma come mRNA per la sintesi delle proteine virali. Alla sintesi della prima catena di DNA segue la sintesi della seconda copiata dalla prima. Il genoma virale completo acquisisce il rivestimento contenente HBsAg per gemmazione della membrana plasmatica cellulare con produzione di virioni maturi che verranno poi liberati.

I virus sono soggetti a mutazioni genetiche spesso inefficaci. Se la mutazione è efficace può indurre una selezione del mutante che prevale sul ceppo selvatico. Pur se la variabilità nella sequenza nucleotidica non supera il 10% (33) tuttavia la presenza di zone altamente variabili nella proteina HBs crea almeno 10 differenti sottotipi di HBsAg.

Le epatiti virali nel tossicodipendente

Hanno importanti ripercussioni cliniche il mutante “escape” dell’HBsAg che può sostituirsi completamente al ceppo selvatico e il mutante HBeAg-difettivo complementare e mai alternativo al virus selvatico.

Il mutante “escape” è stato evidenziato in bambini vaccinati contro HBV che hanno sviluppato infezione da HBV malgrado lo sviluppo di anti HBs (203). E’ legato ad una mutazione puntiforme nella sequenza di un epitopo HBs maggiore. Tale mutazione riduce il legame di Ab monoclonali a questa regione e la loro capacità di neutralizzare il virus mutante. La stima epidemiologica di questo mutante permetterà di valutare l’opportunità di introdurre nei vaccini l’Ag mutato accanto a quello selvatico.

Le forme HBeAg difettive (HBsAg/HBeAb +), in cui è impedita la formazione di HBeAg per mutazione puntiforme della regione pre-core, sono caratterizzate da elevata replicazione virale, presenza di HBV-DNA in circolo, rare remissioni spontanee e bassi tassi di risposta alla terapia con IFN (53,54). Il decorso è severo con rapida evoluzione cirrogena legata alla perdita di immunotolleranza e alla mancata azione modulante dell’HBeAg sull’attacco citotossico (55-58). Se l’immunoeliminazione è rapida gli epatociti che esprimono HBeAg sono distrutti prima che vengano selezionati ceppi mutanti; se, per contro, l’immunoeliminazione è lenta, il mutante HBeAg-difettivo diventa prevalente con persistenza di una popolazione virale in grado di eludere il sistema immunitario perché non esprime HBeAg sulla membrana. Ciò contribuisce a mantenere una riserva virale a replicazione attiva responsabile dell’epatopatia progressiva (59).

b. Ciclo biologico

HBV non è direttamente citopatico. Il danno epatico è proporzionale al livello di risposta immune (60) che avviene con l’intervento di linfociti T-helper e suppressor, linfociti B e monociti. La presenza di anticorpi circolanti contro gli antigeni virali interferisce sull’azione citotossica modulandola (61).

Il ciclo biologico virale segue tre momenti. La replicazione virale dura da settimane ad anni, è presente HBsAg, anti-HBc e HBV DNA. Il paziente è in fase di immunotolleranza, la necroinfiammazione è assente e le ALT sono normali. Segue la sieroconversione con replicazione virale associata a immunoeliminazione, caratterizzata da persistenza di HBsAg, HBV DNA con HBeAg o anti HBe, è presente necroinfiammazione epatica con titoli elevati di ALT. Spesso la viremia è fluttuante accompagnata da aumenti delle ALT e delle HBcIgM. Se la risposta immunitaria è efficiente si ha un’epatite acuta autolimitantesi. Al contrario con immunoeliminazione insufficiente l’epatite persiste con tendenza alla cronicizzazione. Il terzo momento è la fase di non replicazione, caratterizzata dalla progressiva recessione della replica virale con integrazione della porzione del genoma codificante HBsAg nel genoma epatocitario. In questa posizione HBV può ancora dirigere la sintesi di HBsAg ma è incapace di sintetizzare HBeAg e HBcAg.

La presenza di HBsAg non è accompagnata da segni sierologici di replicazione virale. La necroinfiammazione può essere assente o può esservi persistenza di fibrosi o cirrosi non attiva in relazione al danno indotto nella fase di replicazione.

c. Storia naturale

L'infezione primaria può comparire anche dopo 7 mesi dal contagio ed è asintomatica in oltre il 90% dei casi. In meno dell'1% l'infezione primaria ha decorso fulminante (1, 20). Il 10% delle infezioni primarie cronicizza indipendentemente dal fatto che queste abbiano o meno avuto un decorso sintomatico. Due eventi concorrono alla cronicizzazione: la replica virale e la risposta immune specifica ed aspecifica.

E' stata evidenziata un'alterata funzione dei monociti che mediante la liberazione di IL2 e TNF regolano la permeabilità dell'endotelio e permettono la diapedesi necessaria ai linfociti T-citotossici per eliminare gli epatociti infettati (62). Ai fini della guarigione è necessario che, oltre all'eliminazione delle cellule infettate venga impedita l'infezione di altri epatociti con un'adeguata produzione di anticorpi neutralizzanti (12). Un ruolo centrale è esercitato dalla risposta delle cellule NK (63) e dei linfociti T-citotossici (64) verso Ag virali associati ad Ag di classe I dell'MHC espressi sulla membrana epatocitaria. IFN endogeno aumenta l'evidenza delle proteine di classe I dell'MHC facilitando il riconoscimento e la lisi degli epatociti infettati da parte di linfociti T citotossici (65).

Nell'infezione cronica si osservano variazioni dei ritmi di replica e dell'espressione dei prodotti virali che si correlano con gli eventi clinici e l'attività dell'epatite (66).

In base alle caratteristiche replicative si distinguono diverse forme di epatite cronica.

L'epatite cronica tipica presenta ALT costantemente elevate e flogosi epatica con attiva replicazione virale. L'epatite cronica atipica è sostenuta da HBV-HBeAg difettivo, la viremia e la necroinfiammazione sono continue o intervallate da brevi fasi di remissione biochimica. L'infezione integrata senza malattia è caratterizzata dalla presenza di HBsAg e HBeAb, assenza degli indici di replicazione virale e funzionalità epatica normale. Il virus integrato nel genoma epatocitario è capace di esprimere solo l'HBsAg senza formazione di virus completo e definisce la discussa condizione di "portatore sano" (67). Ciò deriva dalla rapida cessazione della replica virale senza acquisizione di immunità all'HBV con passaggio alla fase di infezione integrata. Uno studio italiano ha dimostrato che la percentuale annua di sieroconversione ad anti HBe con remissione della malattia è del 16% (68). Ogni anno 1-2% di questi pazienti perde HBsAg. La cessazione della replica virale porta ad un arresto dello stimolo patogeno che sostiene la flogosi epatica tuttavia, se il momento replicativo è stato prolungato, il danno tessutale e il sovvertimento della struttura epatica saranno irreversibili. L'epatite cronica intermittente presenta ALT elevate che periodicamente possono tornare normali in relazione a riattivazione o quiescenza della replica virale; è presente HBeAg/anti HBe intermittente.

Le epatiti virali nel tossicodipendente

Il quadro di remissione è caratterizzato da persistenza di test di funzionalità epatica normali e assenza di marcatori sierici di infezione da HBV. La remissione spontanea può essere definitiva o essere seguita da recidive. L'epatite può riattivarsi dopo sieroconversione a HBeAb con ricomparsa di HBV-DNA e HBeAg spesso in coincidenza con stati di immunodepressione (16,69,70). L'ipotesi è che anticorpi (HBcAb?, HBeAb?) si leghino agli antigeni virali di superficie degli epatociti, mascherandoli all'azione dei linfociti T-citotossici (71). Ciò porta a protezione dall'azione immunomediata di un certo numero di epatociti infetti che possono poi rappresentare un focolaio da cui si riespande l'infezione da HBV (72).

L'infezione cronica da HBV è epidemiologicamente correlata al carcinoma epatocellulare e le cellule neoplastiche spesso contengono frammenti monoclonali o oligoclonali del genoma di HBV integrati nei loro cromosomi (73).

d. Quadri istologici

Oggi si adotta la classificazione istologica proposta da Scheur che propone una valutazione semiquantitativa dell'attività lobulare, della fibrosi e della attività portale e periportale (74). A queste caratteristiche istologiche viene assegnato un grado da 0 a 4 in base alla severità e all'estensione del quadro. L'attività lobulare è 0: assente, 1: infiammazione senza necrosi, 2: necrosi focale o corpi acidofili, 3: severo danno cellulare focale, 4: necrosi a ponte. La fibrosi è 0: assente, 1: tratti portalì fibrotici allargati, 2: setti periportalì o portoportalì con architettura intatta, 3: fibrosi con alterazioni strutturali in assenza di cirrosi, 4: cirrosi probabile o certa. Infine l'attività portale o periportale è definita: 0: assente, 1: infiammazione portale, 2: modesta necrosi piecemeal, 3: necrosi piecemeal di entità modesta, 4: necrosi piecemeal severa. La necrosi "piecemeal" (75) è caratterizzata dalla presenza di cellule periportalì infiammatorie e attività fibroblastica che distruggono il parenchima e isolano gruppi di epatociti.

Il vantaggio di questa classificazione è rappresentato dalla possibilità di poter quantificare in modo corretto il danno istologico e di poter utilizzare dei parametri precisi per rivalutare, dopo trattamento interferonico, la modificazione dello stesso.

e. Diagnosi

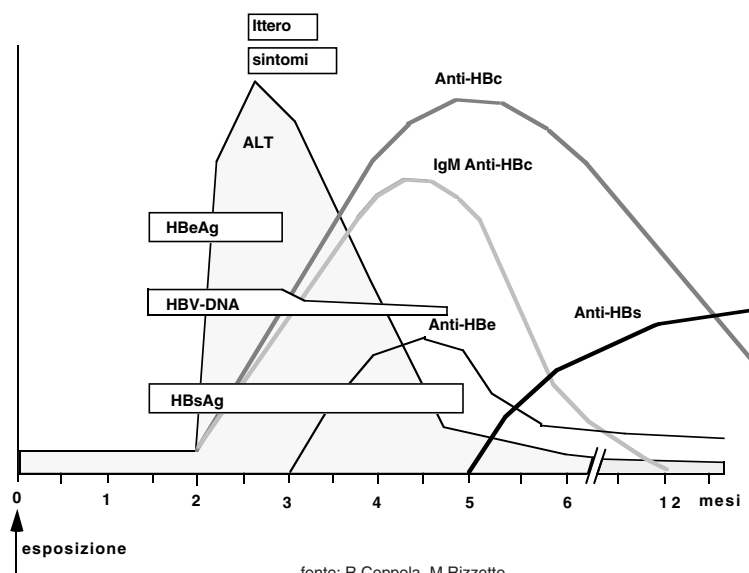
Nel tossicodipendente il danno epatico è spesso plurifattoriale e l'elemento infettivo si associa all'abuso alcolico, farmacologico e al disordine alimentare. La routine laboratoristica orienta la diagnosi, ma solo un completo esame sierologico associato ad una attenta anamnesi sono in grado di chiarire l'origine e la gravità dell'epatopatia. La biopsia conferma la diagnosi che spesso si è già raggiunta con le indagini laboratoristiche ma soprattutto permette una valutazione dell'effettivo danno epatico considerando che

non sempre la diagnosi clinico-laboratoristica concorda con quella istologica.

La diagnosi di infezione primaria da HBV indipendentemente da un esordio clinicamente manifesto viene posta in soggetti HBsAg positivi con anticorpi anti-HBc di classe IgM che costituiscono il marker sierologico più sensibile e specifico di infezione acuta (76). HBV DNA sierico è evidente dalla 6°-8° settimana di infezione. Nei due terzi circa dei casi è presente nel siero anche HBeAg, componente solubile di HBcAg presente nel nucleo epatocitario (58).

HBsAg e HBV DNA sono rilevabili 1-2 mesi prima dei segni clinici e per un periodo di tempo variabile di alcuni mesi. HBcIgM diviene indosabile entro 6 mesi nella forma che evolve verso la guarigione e può rappresentare l'unico marker di infezione quando HBsAg scompare e non è ancora dosabile HBsAb. HBcIgG persiste con ogni probabilità per tutta la vita ed è il miglior marker sierologico di pregressa infezione. HBeAg nell'evoluzione favorevole scompare in circa tre mesi dall'episodio acuto con sieroconversione ad HBeAb. La persistenza di HBeAg è indice di attiva moltiplicazione virale e di evoluzione in cronicizzazione (20). (figura 1)

Figura 1 : Epatite B acuta



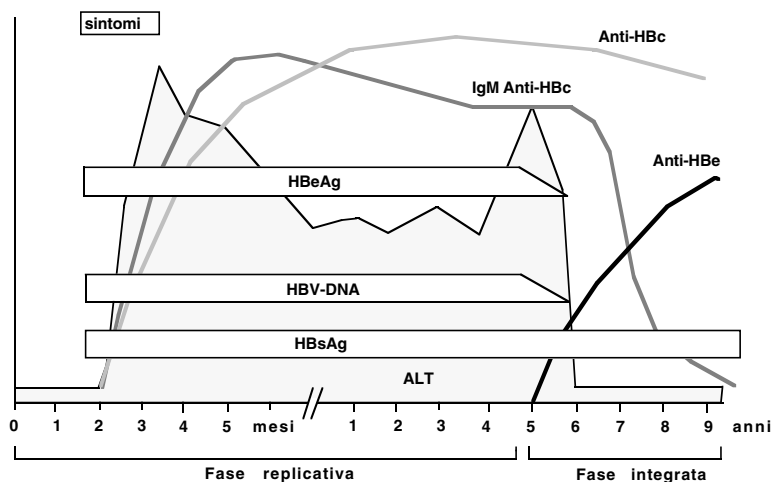
fonte: R.Coppola, M.Rizzetto
La diagnostica e la terapia delle epatiti virali - M.D. 08.
Scuola Superiore di Oncologia e Scienze Biomediche, 1993

Sono stati identificati 2 antigeni pre-S1 e pre-S2 la cui presenza nel siero è correlata ad elevati livelli di replicazione virale. La comparsa di anticorpi anti-pre-S2 sembra coincidere con la sierconversione ad anti-HBe ed è indice di evoluzione favorevole (51).

L'infezione cronica, come già ricordato, evolve secondo diverse modalità.

Nell'epatite cronica tipica ad una fase replicativa con presenza di HBV DNA, HBcIgM e HBeAg segue una fase integrata dove continua la sintesi di HBsAg mentre non è più presente HBeAg e HBV DNA. La scomparsa di HBV DNA coincide con un caratteristico picco delle transaminasi. (figura 2)

Figura 2 : Epatite cronica B tipica

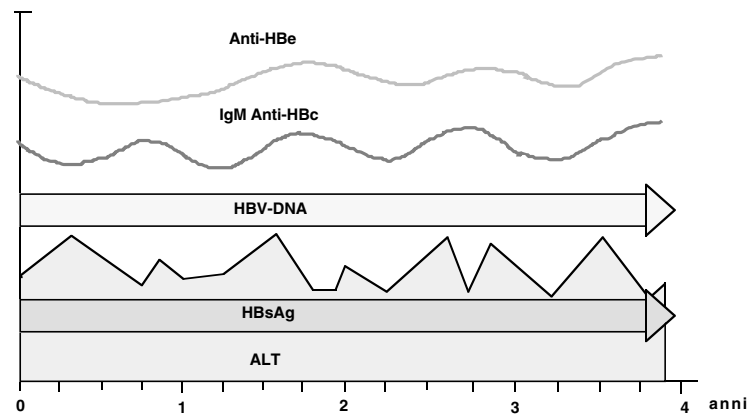


fonte: R.Coppola, M.Rizzetto
La diagnostica e la terapia delle epatiti virali - M.D. 08.
Scuola Superiore di Oncologia e Scienze Biomediche, 1993

L'infezione cronica integrata è caratterizzata da presenza di HBsAg ed anti-HBe con assenza di malattia epatica. La ricerca di HBV DNA, HBeAg e HBcIgM è negativa.

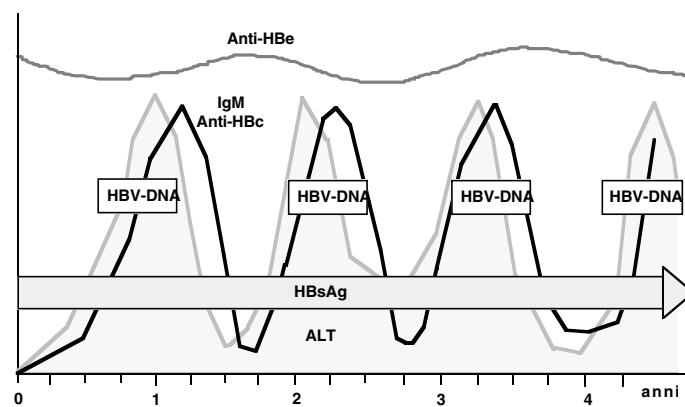
Nell'epatite cronica B atipica il virus mutato è incapace di esprimere HBeAg per cui i segni di malattia epatica sono associati alla presenza di anti-HBe. In questa forma la viremia può essere persistente con necroinfiammazione e ALT sempre elevate o recidivanti con fasi di attivazione intervallate da fasi di remissione biochimica e della replica virale. (figure 3 e 4)

Figura 3 : Epatite cronica B atipica (viremia persistente)



fonte: R.Coppola, M.Rizzetto
La diagnostica e la terapia delle epatiti virali - M.D. 08.
Scuola Superiore di Oncologia e Scienze Biomediche, 1993

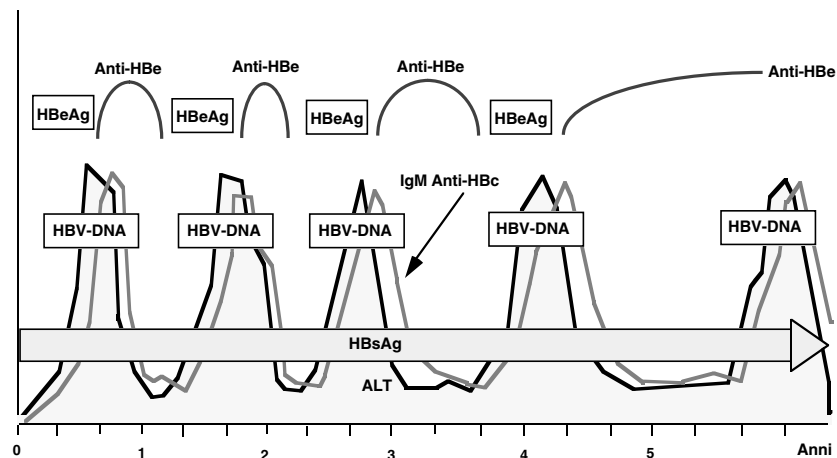
Figura 4 : Epatite cronica B atipica (viremia recidivante)



fonte: R.Coppola, M.Rizzetto
La diagnostica e la terapia delle epatiti virali - M.D. 08.
Scuola Superiore di Oncologia e Scienze Biomediche, 1993

Nella forma recidivante si alternano fasi di viremia accompagnate da HBeAg e picchi di ALT intervallate da remissione con normalizzazione delle ALT e comparsa di anti-HBe (33). (figura 5)

Figura 5: Epatite B cronica recidivante con HBeAg/HBeAb intermittente



fonte: R.Coppola, M.Rizzetto
La diagnostica e la terapia delle epatiti virali - M.D.
Scuola Superiore di Oncologia e Scienze Biomediche, 1993

2. HDV

a. Caratteristiche virologiche

Il virus Delta (HDV) è un virus difettivo a RNA (7). Il virione è una struttura chimica di forma sferica del diametro di 36 nm. Il rivestimento è costituito da HBsAg, all'interno è presente l'Ag Delta (HDAg) e una molecola di RNA circolare a catena singola (HDV-RNA) che forma una struttura secondaria a doppia elica (77). HDV con i suoi 1700 nucleotidi è il più piccolo tra i virus animali noti ed è localizzato nel nucleo degli epatociti a differenza di tutti gli altri RNA virus localizzati nel citoplasma (78).

L'epatite Delta è condizionata dall'infezione da HBV: HDV può infettare l'epatocita anche in assenza di infezione e replicazione nella stessa di HBV ma la fuoriuscita di virioni completi avviene solo se vi è nella stessa cellula sintesi contemporanea sia di HDV

Rna che di HBsAg (79). HDV si replica per l'azione di una polimerasi epatocitaria ingannata dall'RNA virale. La replicazione avviene con la formazione di una catena di RNA antigenomica che deve fungere anche da mRNA e passare nel citoplasma per permettere la sintesi proteica. Si può ipotizzare che per l'assemblaggio dell'HDV-RNA nel virione il virus helper intervenga permettendo il trasporto del complesso RNA-proteina Delta attraverso il sistema reticolo-endoplasmatico (80). Completata la propria replicazione HDV inibisce la replicazione di HBV. Non è chiaro come il virus possa essere dismesso dalla cellula.

b. Storia naturale

L'infezione può verificarsi secondo due modalità.

Nella coinfezione HDV e HBV infettano insieme. L'epatite bifattoriale, dopo il quadro acuto tipico dell'epatite B, tende a risoluzione spontanea con eliminazione di entrambi i virus. La cronicizzazione è di circa il 2% ed è legata alla storia naturale dell'infezione da HBV che non sembra modificata da HDV (81).

La sovrainfezione è più frequente e, in questo caso, HBV preesistente funge da helper per HDV. L'infezione da HDV si manifesta come epatite conclamata che si inserisce in un'epatite B cronica. Contrariamente a quanto si verifica con HBV, l'infezione da HDV si associa prevalentemente a malattia epatica (124). In oltre il 90% si ha cronicizzazione con evoluzione in cirrosi nel 70-80% dei casi (82) e ciò ha suggerito l'ipotesi che l'epatite delta sia sostenuta dall'effetto citopatico diretto del virus. La riprova della natura maligna dell'epatite Delta è data dalla sua prevalenza nei candidati al trapianto epatico in Italia: oltre 50% presenta marcatori di HDV a fronte di una prevalenza del 4-5% nella popolazione generale (83). Sembra esservi una correlazione diretta tra l'epatite delta e l'epatocarcinoma come dimostrerebbero studi recenti ove emerge che lo sviluppo del carcinoma epatico è più frequente tra i portatori di epatite delta rispetto ai portatori di sola epatite B (84).

c. Diagnosi

Gli anti Delta totali sono segno di esposizione a HDV. Nell'infezione cronica da HDV sono presenti a titolo elevato mentre si rilevano a basso titolo in portatori sani di HBsAg e frequentemente in tossicodipendenti HBsAg negativi/HBsAb positivi dove rappresentano la cicatrice sierologica di pregressa infezione da HDV. IgM anti Delta rappresentano, al contrario, un marcatore di replicazione virale e di malattia (33).

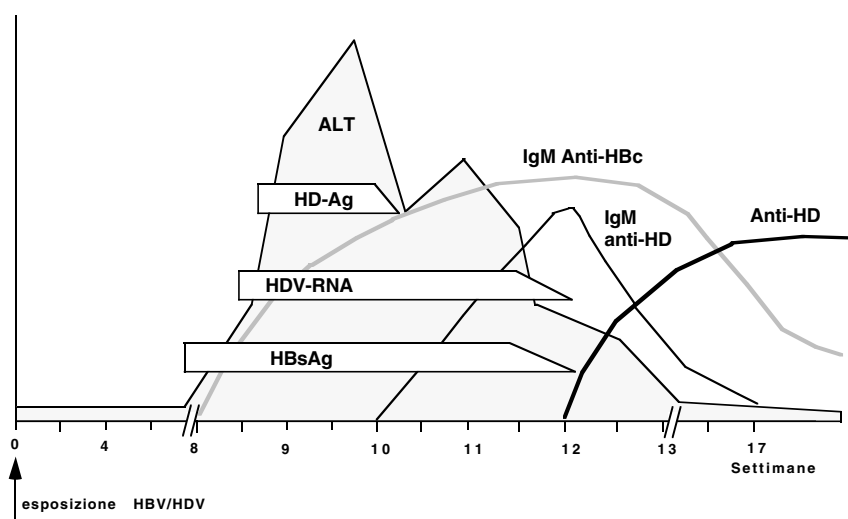
Nella coinfezione sul piano laboratoristico la doppia viremia si esprime con due picchi di citolisi separati di alcune settimane. HDV RNA compare nel sangue circa due mesi dopo l'infezione. La risposta anticorpale ad HDV è lenta ed è accompagnata dai

marker sierologici di infezione acuta da HBV. IgM anti Delta è solitamente transitorio e la sua persistenza è indice di cronicizzazione della malattia. Anti Delta totale é presente per alcuni mesi dopo l'eliminazione virale (85) e può persistere spesso indefinitivamente nelle coinfezioni acquisite in corso di tossicodipendenza (86). (figura 6)

La sovrainfezione può presentarsi come un'epatite B in apparente risoluzione con presenza iniziale di antiHBe e assenza di HBcIgM. Per azione inibitoria di HDV su HBV, al momento della sovrainfezione HBsAg scende sotto la soglia di sensibilità e può esservi una transitoria reattività all'anti HBs (33). Sono presenti HDV RNA e anti-Delta di classe IgM e IgG. La forma non evolutiva è caratterizzata dalla scomparsa di IgM con persistenza di IgG a basso titolo, ma frequentemente IgM e IgG persistono a titolo elevato indicando l'evolutività della malattia (87). (figura 7)

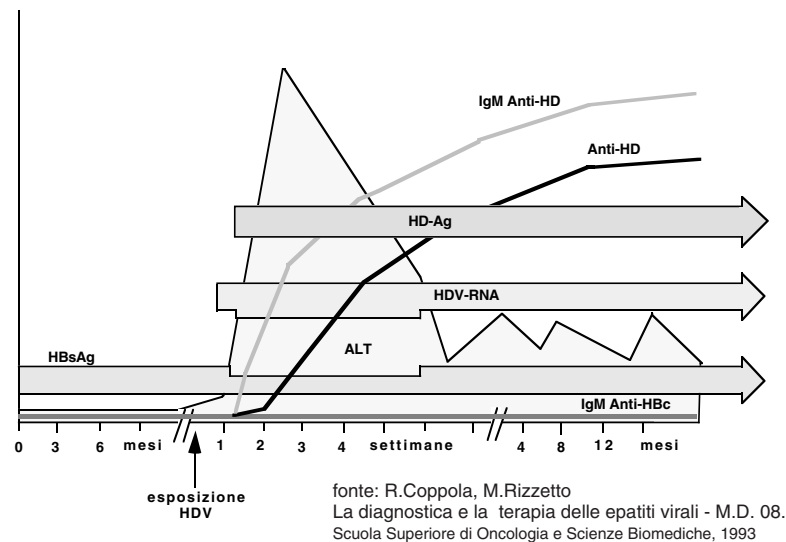
La ricerca di marker di HDV in HBsAg negativi può essere suggerita nell'epatite acuta NANBNC che potrebbe essere sostenuta da coinfezione HBV/HDV con HBsAg sotto il livello soglia del test e in HIV positivi in cui HDV può essere rivelato anche in assenza di marker di HBV (33).

Figura 6 : Coinfezione HBV/HDV



fonte: R.Coppola, M.Rizzetto
La diagnostica e la terapia delle epatiti virali - M.D. 08.
Scuola Superiore di Oncologia e Scienze Biomediche, 1993

Figura 7 : Sovrainfezione da HDV



3. HCV

a. Caratteristiche virologiche

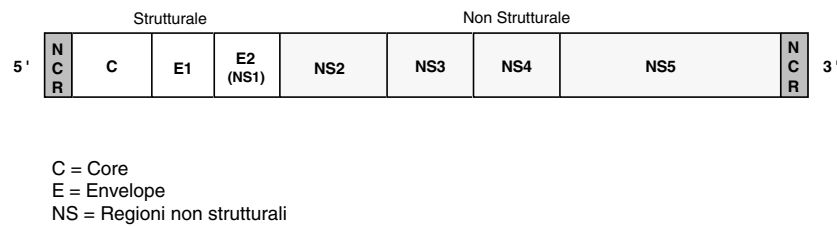
Nel 1989 i ricercatori della Chiron Corporation utilizzando la tecnologia molecolare ricombinante hanno clonato l'Ag c100-3 che è stato poi utilizzato in fase solida per i test ELISA di prima generazione ed hanno successivamente caratterizzato il genoma del virus dell'epatite C (HCV) (11). HCV si è dimostrato essere l' agente eziologico della maggior parte delle epatiti NANB post trasfusionali e sporadiche e della maggior parte delle epatopatie croniche di natura indefinita (88). In HCV sono caratteristiche la scarsa espressione del genoma virale, la modesta immunogenicità, la mancata integrazione nel DNA della cellula infetta ed un titolo anticorpale basso o fluttuante.

HCV ha un diametro di 50-60 nm, possiede un involucro lipidico con sottili prolungamenti di circa 6 nm. Ha caratteristiche simili ai flavivirus (89).

E' un RNA virus, ad elica singola, di circa 10.000 nucleotidi con ampia eterogenicità tra i diversi ceppi di HCV. Il genoma codifica per una poliproteina che viene poi clivata in proteine strutturali e non strutturali (33,90). (figura 8)

La regione strutturale ha tre domini: il C che codifica la proteina del nucleocapside (C22) e le regioni E1 e E2/NS1 che codificano per proteine glicosilate dell'envelope. La

Figura 8 : Genoma di HCV organizzazione genetica



regione non strutturale ha quattro domini: NS2 che codifica per un'elicasi/proteasi implicata nella replicazione dell'HCV RNA, NS3 che codifica il c33C, NS4 che codifica l'Ag 5-1-1 e c100-3 ed NS5 che codifica una RNA polimerasi RNA dipendente (33). Lo studio dell'RNA virale ha permesso di caratterizzare alcuni genotipi la cui tipizzazione permetterebbe un'orientamento prognostico sulla risposta terapeutica all'interferone e rappresenterebbe la base di lavoro per la creazione di un vaccino il cui sviluppo è legato al superamento degli ostacoli derivati dalla presenza di una regione genomica ipervariabile (91).

La variazione genomica si verifica principalmente nelle regioni E2/NS1, E1 ed NS5 (33).

Dopo il ceppo originale clonato in USA (HCV1) (88), due diversi ceppi sono stati isolati in Giappone (HCV-J e HCV-JK). Successivamente è stato scoperto un'ulteriore isolato di origine giapponese diverso dai due precedentemente identificati (92). L'analisi comparativa recente ha portato all'identificazione di almeno 6 genotipi diversi di HCV (93) con sequenze nucleotidiche che differiscono per meno del 10% tra genotipi dello stesso gruppo e per più del 20% tra genotipi di gruppi diversi (33,94,95).

In Italia il genotipo I prevale nelle forme post-trasfusionali e il II nelle forme sporadiche, entrambi sostengono infezioni spesso subcliniche. Il genotipo II è associato tuttavia ad una viremia elevata e ad un danno epatico più severo. Il genotipo III è tipico dei tossicodipendenti, si accompagna frequentemente a malattia manifesta, sembrerebbe essere il meno virulento e sosterebbe quadri di epatite cronica meno severa. I dati sul genotipo IV sono ancora limitati. Sarebbero soprattutto i soggetti di genotipo II per il quale è ipotizzata una maggior espressione di antigenicità, a ricoprire lo stato di portatori sani.

La risposta terapeutica è massima nei pazienti con genotipo III, i pazienti con genotipo I sono scarsamente responsivi e i pazienti di genotipo II ricoprono una posizione intermedia. I portatori di ceppi multipli di HCV hanno un'aspettativa di risposta all'IFN ancora più bassa.

Le varianti di HCV possono causare reinfezioni in soggetti già precedentemente affetti da epatite C (96).

b. Ciclo biologico

L'esposizione è la prima fase di interazione virus-ospite. E' presente un numero limitato di particelle virali contrastato da meccanismi immunitari aspecifici. I marcatori di infezione virale sono assenti e solo con PCR è possibile l'identificazione del virus (20). La replicazione virale è modesta e probabilmente non confinata agli epatociti ma presente anche nel midollo e nei linfociti T e B. Quando HCV sfugge al controllo dell'ospite inizia l'infezione vera e propria caratterizzata da florida replicazione virale. Tra l'8^a e 16^a settimana di infezione compaiono gli Ab specifici. Infezione e replicazione virale non causano invariabilmente una malattia epatica che compare solo quando la risposta immune e il danno citopatico diretto determinano la necrosi degli epatociti infettati. La cronicizzazione, frequente nell'epatite C, sarebbe sostenuta da una reazione immunomediata che tende ad eliminare il virus e può durare per anni determinando lesioni anatomico-funzionali permanenti del fegato. La viremia stessa in alcuni soggetti ormai guariti può persistere per anni prima della completa eliminazione dalle cellule del sistema immunitario capaci di albergare il virus (52).

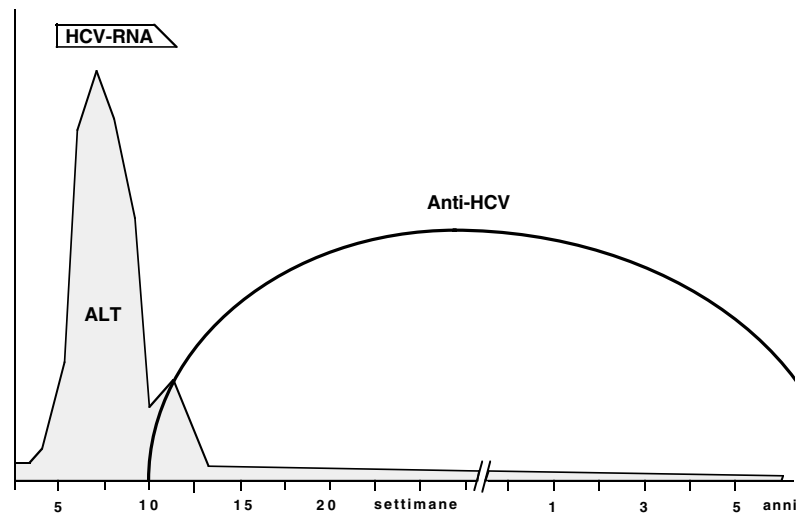
HCV non è in grado di integrarsi nel genoma umano né di produrre eccesso di antigeni che inducano immunotolleranza come HBV, per cui la strategia di persistenza virale segue altre vie. I virus epatitici sono soggetti a mutazioni genomiche meno frequenti per gli agenti a DNA e comuni per i virus a RNA. Molte mutazioni sono silenti, altre avvengono in siti strategici e possono determinare importanti modifiche della biologia virale e dell'espressione di malattia. Di conseguenza alcuni ceppi si dimostrano maggiormente aggressivi ed esprimono diversa sensibilità agli antivirali. Anche l'eterogenicità genetica di HCV ha un ruolo cardine per la persistenza virale con la presenza della regione ipervariabile nell'estremità N-terminale della glicoproteina E2 analogamente a quanto accade per la GP 120 di HIV (90).

c. Storia naturale

L'infezione primaria decorre, dopo un periodo di incubazione di 6-12 settimane, in forma subclinica e anitterica nel 90% dei casi, e spesso è riconosciuta incidentalmente per ampie oscillazioni delle transaminasi che possono raggiungere anche 10-20 volte la norma (89). Nelle rarissime forme fulminanti HCV potrebbe partecipare come "coinfettore" assieme ad altri virus e non come agente etiologico specifico come accade per HBV.

Dopo la fase acuta si evidenzia un'evoluzione verso la cronicizzazione in oltre il 70% dei casi (97,98). (figura 9)

Figura 9 : Epatite C acuta



fonte: R.Coppola, M.Rizzetto
La diagnostica e la terapia delle epatiti virali - M.D. 08.
Scuola Superiore di Oncologia e Scienze Biomediche, 1993

La cronicizzazione è definita dalla persistenza di ALT tra valori appena superiori alla norma a 5-6 volte la norma per un periodo maggiore di 6 mesi associata al riscontro di HCV RNA sierico. (figura 10)

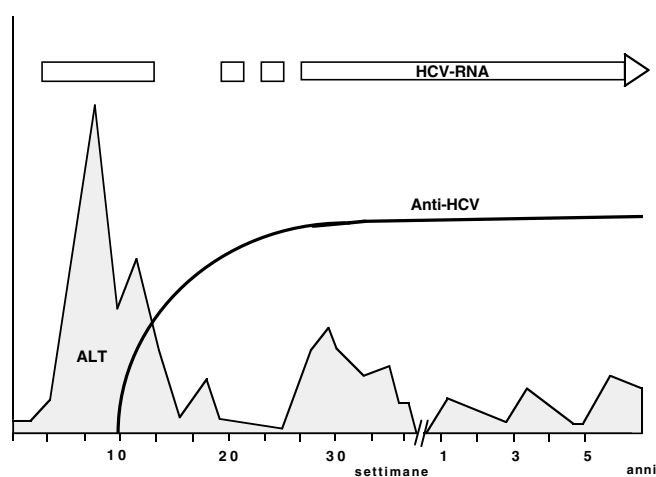
Solo il 50% dei portatori di epatite cronica presenta segni e/o sintomi di malattia epatica, il 20% dei pazienti che cronicizzano evolve in cirrosi e nel 10% di questi vi è un'elevato rischio di sviluppo di epatocarcinoma (98-100). Generalmente l'epatite cronica C segue un'evoluzione lenta e trascorrono anche 20 anni dalla diagnosi di epatite cronica a quella di cirrosi e altri 10 anni per l'insorgenza di epatocarcinoma (34).

Fattori predisponenti la cronicizzazione sembrano essere oltre al genotipo e ai livelli di viremia, l'età maggiore ai 40 anni e la compresenza di HIV, HBV e abuso alcolico che possono giocare pesantemente sull'immunocompetenza dell'ospite.

L'elevata prevalenza di anti-HCV (60%) in portatori di epatocarcinoma fa discutere sul ruolo del virus nella carcinogenesi. Escluso che HCV sia direttamente oncogeno, in quanto sprovvisto della transcriptasi inversa necessaria per l'integrazione di sequenze virali nel genoma epatocitario, è più probabile ipotizzare che funga da cofattore agendo indirettamente tramite la flogosi persistente degli epatociti (38,39,98,101).

Sulla base delle caratteristiche replicative virali è possibile distinguere diversi quadri.

La malattia continua è caratterizzata da un modesto aumento di ALT, seguito da un

Figura 10 : Epatite C cronica

fonte: R.Coppola, M.Rizzetto
 La diagnostica e la terapia delle epatiti virali - M.D. 08.1993
 Scuola Superiore di Oncologia e Scienze Biomediche, 1993

plateau senza fluttuazioni ma con ALT persistentemente sopra la norma. In questa forma la fase acuta sfuma impercettibilmente verso la cronicizzazione.

La malattia recidivante tipica delle forma post-trasfusionale è caratterizzata da ALT ad andamento polifasico con numerosi picchi di ipertransaminasemia intervallati da periodi di normalità. Questa situazione solitamente perdura evolvendo in cronicizzazione. Il discusso termine di “portatore sano” definisce il soggetto con livelli solitamente normali di ALT tuttavia ancora viremico ed in grado di trasmettere la malattia.

Infine le forme che vanno a guarigione tipiche delle epatiti senza apparente esposizione parenterale, le ALT hanno un andamento monofasico caratterizzato da un rapido aumento seguito da un ritorno alla normalità con guarigione dalla malattia.

d. Quadri istologici

Si rimanda a quanto già detto per l'epatite B (102). Suggestiva, anche se non specifica dell'epatite C, è la presenza di infiltrati linfocitari portalì simifollicolari con lesioni dei dotti biliari, infiltrati mononucleari nei sinusoidi e steatosi diffusa.

Le epatiti virali nel tossicodipendente

e. Correlazione con patologie autoimmuni

L'epatite autoimmune di tipo II dell'adulto LKM positiva presenta prevalenze di Ab anti HCV superiori all'80%. Tale forma va inquadrata come una patologia primariamente virale seguita da fenomeni autoimmunitari secondari (103). La risposta autoanticorpale in corso di epatite C pare associata alla presenza dell'HLA-DR3, lo stesso allele presente in molti quadri autoimmuni.

Nella crioglobulinemia mista essenziale (CME) la prevalenza di Ab anti HCV è tra il 40 e il 90%. Si ritiene che HCV infettando e replicandosi anche in monociti e linfociti T e B induca lo sviluppo di cloni di plasmacellule in grado di produrre autoanticorpi. In queste forme sono stati rilevati livelli di HCV nei crioprecipitati maggiori di 1000 volte rispetto al sangue intero (34,104). I pazienti con CME e positività ad Ab anti HCV presentano solitamente un interessamento cutaneo ed epatico più importante di quello presente nell'HCV negativo.

La ricerca di auto Ab è fondamentale per identificare tra le epatiti criptogenetiche le forme autoimmuni e prima di intraprendere la terapia con IFN che può indurre in questi casi gravi reazioni autoimmuni (204).

f. Diagnosi

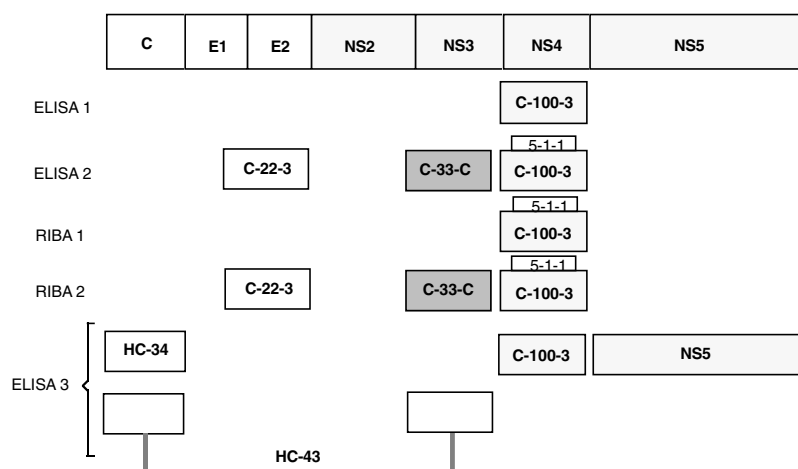
- Determinazione della risposta anticorpale

Gli anticorpi anti-HCV (105) sono indicativi di esposizione al virus, tuttavia la relazione tra presenza di anticorpi e infettività non è assoluta e non discrimina la presenza di viremia dal ricordo immunitario. L'incremento del titolo anticorpale specifico di tipo IgM sarebbe un validissimo strumento ma i test oggi disponibili hanno bassa sensibilità e sono significativi solo se positivi (34). Solo in una minoranza di soggetti la presenza di Ab anti HCV rappresenta cicatrice sierologica e in questi casi il titolo anticorpale declina lentamente, scomparendo dopo parecchi anni dalla risoluzione dell'epatite C (33).

Il test di screening si sviluppa su metodica ELISA. Il primo antigene clonato è stato il peptide c100-3, antigene non strutturale scarsamente immunogeno e non ben esposto al sistema immunitario dell'ospite, impiegato nel test ELISA e RIBA di I^a generazione gravati da un elevato tasso di falsi negativi e che svelava Ab specifici solo dopo 4-6 mesi dall'inizio dell'infezione (99,106,107). ELISA di II^a generazione impiega gli antigeni c100-3, c22-3 e c33C; questo test oltre ad essere più sensibile consente una diagnosi dopo meno di 3 mesi. Gli antigeni impiegati nel test di II^a generazione sono dotati di elevata immunogenicità e potrebbero diventare un valido marker sia di esposizione al virus che di clearance virale dopo terapia con IFN (108). Con i test di III^a generazione attualmente disponibili si riduce ulteriormente il periodo finestra aumentando contemporaneamente la specificità. Nei test di III^a generazione (Abbott HCV EIA 3.0) viene impiegato oltre

all'Ag c100-3 anche gli Ag HC-34, HC-43 ed NS5. Poichè sono possibili falsi positivi per la presenza di anticorpi che reagiscono con le proteine del microorganismo in cui gli antigeni ricombinanti sono stati riprodotti (*Saccharomyces Cerevisiae* o *E.Coli*) o verso la proteina di fusione superossidodismutasi (SOD) utilizzata nella tecnologia del DNA ricombinante, è opportuno confermare i casi dubbi con test RIBA che consente di evidenziare nel siero la presenza di anticorpi specifici contro 4 antigeni virali (5-1-1, c100-3, c33c, c22-3) e di discriminare questa positività da una reattività aspecifica verso la SOD (106). (figura 11)

Figura 11 : Test anticorpali per HCV



- Cronologia dei marcatori indiretti

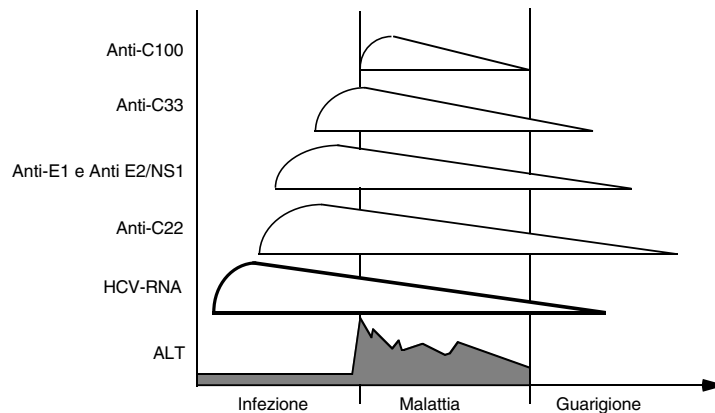
In assenza di una valutazione attendibile delle IgM specifiche la determinazione qualitativa e quantitativa dei diversi Ab è utile nel monitoraggio e nell'orientamento prognostico dell'epatite C (108).

Gli Ab anti core (anti C22) sono i primi a comparire e gli ultimi a scomparire in pazienti guariti. Gli Ab contro le proteine dell'envelope (anti E1, anti E2/NS1) compaiono in fase più tardiva rispetto agli anticore e scompaiono più precocemente. La risposta anti E1 e anti NS2 con successiva riduzione del titolo è fattore prognostico favorevole. Gli Ab anti NS3 (anti C33) determinati con frequenza inferiore rispetto agli anti core compaiono più tardivamente rispetto a questi e ne precedono la scomparsa. Gli Ab anti NS4 (anti C100) sono fondamentali dal punto di vista prognostico perchè la loro caduta o scompar-

sa è predittiva di remissione o guarigione dell'infezione da HCV. Sono gli ultimi ad essere rilevabili e la loro comparsa tardiva renderebbe ragione di molti falsi negativi al test ELISA di Ia generazione. Gli Ab anti NS5 (anti RNA polimerasi virale) hanno un'utilità paragonabile agli anti NS4.

La maggior parte dei pazienti con infezione da HCV ha gli anti C22 e gli anti C33 presenti nel siero già a 6 settimane dall'inizio dell'infezione mentre gli anti C100-3 possono essere ancora negativi a 6 mesi dall'infezione (88,109). (figura12)

Figura 12 : Cronologia dei marcatori indiretti



Con i pazienti HIV positivi sono emersi in alcuni casi anche problemi diagnostici in quanto, come segnalato da alcuni autori (110), e anche da noi osservato, l'anti c100 può scomparire in soggetti con concomitante infezione da HIV. L'alterata risposta immunologica con incapacità di produrre Ab anti HCV misurabili sosterebbe nell'HIV positivo tale evento. In questi pazienti inoltre, gli alti livelli di IgG sieriche possono causare con una certa frequenza falsi positivi ai test per HCV.

- Determinazione dell'HCV RNA

La bassa viremia di HCV ostacola una determinazione antigenica in grado di fornire un' indicazione assoluta dell'infezione in corso. Il problema è oggi in parte superato dall'applicazione della Polymerase Chain Reaction (PCR) (11,105). Questa tecnica permette di amplificare in modo esponenziale minime quantità di acido nucleico in modo ta-

le da renderle visibili alla sonda di ibridizzazione molecolare. La metodica è applicabile su siero e su materiale biotico epatico. Ora è possibile ottenere anche un dato quantitativo con misura dell'entità della viremia (206).

La presenza di HCV RNA nel siero indica infezione da HCV in atto ma non è diagnostica in modo assoluto di epatite. Vi è buona correlazione tra HCV RNA sierico ed Ab anti HCV anche se in alcuni soggetti la presenza del virus non è accompagnata dall'Ab specifico (33). Il livello di transaminasi al contrario non è sempre correlato alla viremia (109,111). Per l'elevato rischio di falsi positivi e negativi è necessaria una standardizzazione della PCR (112).

HCV RNA è presente nel siero in fase precoce parecchie settimane prima della sierconversione e in soggetti con alterata risposta immune (come gli HIV positivi) può rappresentare l'unico marker rilevabile di epatite C. HCV RNA scompare in più dell'85% dei pazienti che rispondono al trattamento con IFN e la PCR può essere usata per monitorare tali pazienti ed evidenziare precocemente segni di recidiva anche se rimangono siti extraepatici (linfociti periferici e monociti) ove il virus può accumularsi. La standardizzazione della determinazione quantitativa dell'HCV RNA permetterà un'ulteriore affinamento diagnostico per decidere la dose e la durata della terapia antivirale considerando che pazienti con valori elevati di viremia basale rispondono peggio al trattamento rispetto a pazienti con viremie medio-basse (113). PCR infine è utile per valutare il rischio di trasmissione verticale di HCV in una madre con viremia elevata.

MODALITÀ DI TRASMISSIONE DEI VIRUS EPATITICI B, DELTA E C

HBV

HBV è stato isolato oltre che nel sangue in numerosi liquidi biologici (114): saliva, bile, secreto naso-faringeo, latte materno, sperma, muco vaginale, sangue mestruale. Le feci non sono infettanti per l'azione di Carbossipeptidasi A intestinale che inattiva il virus (5).

La trasmissione avviene per contatto parenterale ma in più del 50% dei portatori di HBV questa non è evidente e si parla di trasmissione per via "parenterale inapparente" (microlesioni della cute e delle mucose orali e genitali attraverso cui il virus può raggiungere il sangue) (5).

La trasmissione sessuale (69) e quella verticale da madre a figlio sono fondamentali nel mantenere lo stato di endemia dell'infezione in una determinata popolazione (20).

La trasmissione verticale spesso si verifica al momento del parto ed è particolarmente importante in quanto il 90% di questi neonati diventerà in seguito portatore cronico di HBV (115,116). Particolarmente a rischio di infezione risultano i figli di madri

Le epatiti virali nel tossicodipendente

HBeAg/HBV DNA positive (33).

Anche l'allattamento, se pur raramente, rappresenta una via di trasmissione di HBV.

Contatti interpersonali stretti, favoriti da carenti condizioni igieniche, possono rappresentare un momento di rischio per l'elevato livello di infettività di HBV e questo può favorire anche la trasmissione di HDV (117). E' stato dimostrato che la trasmissione di HBV tra bambini durante le normali attività di gioco non è infrequente (118), se nella maggior parte dei casi l'infezione tende a spegnersi, in alcuni casi la forma apparentemente risolta può riattivarsi in età adulta con manifestazioni di gravità maggiore.

HDV

Si considera che il 15% dei portatori cronici di HBsAg sia anche portatore di HDV (20). Le modalità di infezione sono le stesse del virus B; HDV tuttavia si trasmette più raramente per via verticale (119).

HCV

La via parenterale era causa di epatiti post trasfusionali in epoca pre-sierologica (33) e continua ad intervenire nella trasmissione dell'infezione tra i tossicodipendenti (33,37). La trasmissione per via sessuale ha prevalenze diverse in relazione agli studi e in soggetti con numerosi partners sessuali è stata trovata una prevalenza di anti-HCV anche 15 volte maggiore di quella osservata nei controlli (42,43,83). In Italia si stima che circa il 10% dei partner sessuali di HCV positivi siano a loro volta infettati (44). La via sessuale ha un'efficienza 4 volte inferiore nel trasmettere l'epatite C rispetto all'epatite B (69) probabilmente per la bassa viremia di HCV ma è ugualmente da tenere in considerazione per l'elevata incidenza di cronicizzazione (20,120). La via verticale non sembra giocare un ruolo rilevante nella trasmissione del virus se non nel caso, già ricordato, di concomitante infezione materna da HIV (41).

E' stato riportato che contatti familiari con HCV positivi hanno una incidenza più elevata di infezione rispetto a quanto atteso nella popolazione generale (121). Questi casi di "contatto inapparente" (33,45) trovano riscontro nella maggior prevalenza di HCV tra le coppie anziane dove la via sessuale gioca un ruolo ancora più marginale (44).

CLINICA DELLE EPATITI NEI TOSSICODIPENDENTI E CORRELAZIONE CON L'INFEZIONE DA HIV

Nel soggetto dedito all'uso di sostanze stupefacenti l'epatite virale presenta frequentemente un decorso prolungato con una maggior incidenza di forme croniche. L'azione

immunosoppressiva di eroina e sostanze da taglio associata al frequente abuso alcolico e alla malnutrizione rappresentano elementi che sinergicamente possono favorire la mancata eliminazione virale e la cronicizzazione dell'epatite.

1. Epatite B

Nel quadro classico dell'infezione primaria è evidente una fase prodromica di alcuni giorni caratterizzata da malessere, anoressia, nausea, vomito, astenia profonda ed epatosplenomegalia prima dell'inizio della fase itterica. Quando compare l'ittero, accompagnato da urine ipercromiche e feci ipocoliche, i sintomi tendono a migliorare. Per la verità gran parte delle infezioni primarie da HBV decorre in modo asintomatico o con sintomi di scarsa rilevanza tanto che il rilievo di markers di infezione da HBV tra i nostri pazienti frequentemente non è accompagnato da dati anamnestici che permettano di risalire al momento dell'infezione. Il 10% delle epatiti B degli adulti non guarisce e cronicizza con ipertransaminasemia fluttuante e comparsa dei marcatori di infettività.

I portatori di epatite cronica sono generalmente asintomatici, la malattia è scarsamente evolutiva e il laboratorio è spesso muto o dà segni di epatocitolisi molto sfumati.

Nell'epatite cronica ad impronta attiva, al contrario, sono presenti segni clinici e laboratoristici di sofferenza epatica tali da indurci ad effettuare un monitoraggio a tempi stretti e a candidare eventualmente il paziente ad una terapia con IFN.

Tra i gruppi a maggior rischio di infezione cronica, oltre ai tossicodipendenti e agli immunocompromessi, vi sono i soggetti infettati in fase neonatale (69,16). Nei neonati figli di donna tossicodipendente con infezione da HBV, la cronicizzazione è strettamente correlata all'immaturità del sistema immunitario. L'HBeAg materno attraversa la placenta e può indurre uno stato di immunotolleranza e HBcAb materno può limitare la risposta immunitaria neonatale impedendo il riconoscimento delle cellule infettate da parte di linfociti T citotossici (71).

Nei portatori cronici adulti al contrario, si suppone che la risposta dell'IFN endogeno sia carente in termini quantitativi (122) o qualitativi (123) e il virus stesso possa spegnere la capacità di risposta all'IFN da parte dell'epatocita.

2. Epatite delta

L'infezione da HDV assume tra i tossicodipendenti differenti impronte cliniche.

Nella malattia severa a rapida evoluzione con viremia fluttuante sia per HBV che HDV, HBV è costituito principalmente da virus in grado di produrre HBeAg anche se, per inibizione della sintesi di HBeAg da parte di HDV questi pazienti possono risultare anti HBe positivi.

Nella forma clinicamente meno severa i titoli di HBV DNA sono bassi o indetermi-

nabili e HBV è prevalentemente costituito da virus HBeAg difettivo.

Infine, quadro raro tra i tossicodipendenti, il paziente può essere asintomatico con assenza di segni di evolutività. HDV RNA e HBV DNA, in questo caso, sono spesso indosabili.

La coinfezione clinicamente non presenta caratteri distintivi dall'epatite B tipica.

Nella sovrainfezione si ha un'epatite acuta nel soggetto che fino a quel momento era portatore di epatite cronica da HBV. L'infezione da HDV rappresenta inoltre un rischio oncogeno e recenti studi ipotizzano che lo sviluppo di epatocarcinoma in pazienti con epatite Delta sia superiore ai pazienti con sola epatite B (84).

3. Epatite C

L'infezione primaria decorre nella maggior parte dei casi in modo asintomatico, le forme clinicamente evidenti sostengono un quadro simile all'epatite B acuta (89).

Nelle forme cronicizzate le remissioni spontanee sono rare.

Anche per i portatori di HCV valgono le stesse considerazioni fatte per HBV circa il monitoraggio e l'eventuale inclusione in terapia interferonica.

L'alcolismo, frequente tra i tossicodipendenti, è una condizione associata ad una elevata prevalenza di Ab anti HCV. Ciò suggerisce che HCV potrebbe rappresentare un importante cofattore che agisce sinergicamente nello sviluppo dell'epatopatia in questi pazienti (44). Anche la coinfezione HBV/HCV, giustificata dalla comune via di trasmissione, è frequente e si associa a malattia epatica più grave con un rischio elevato di sviluppo di epatocarcinoma. Nell'infezione mista la causa principale di danno sarebbe imputabile ad HCV.

4. Epatiti virali nei tossicodipendenti con infezione da HIV

Le infezioni sostenute da virus epatotropi a trasmissione parenterale per le analoghe modalità di contagio sono frequenti nei tossicodipendenti con infezione da HIV (125). L'epatite acuta B mostra in questi pazienti un tempo di clearance di HBsAg prolungato e una tendenza all'evoluzione in cronicizzazione maggiore rispetto agli HIV negativi. La clinica e il laboratorio non assumono caratteristiche differenti (126). Le alterazioni immunologiche che si sviluppano nell'infezione da HIV costituiscono uno dei fattori che favoriscono la persistenza di HBV. Nella coinfezione non pare che il numero dei linfociti CD4+ possa correlare in maniera significativa con lo sviluppo di un'epatite cronica. Sarebbe più rilevante per la cronicizzazione il ruolo di IFN alfa prodotto in questi soggetti in maniera anomala e funzionalmente inefficace associato alla disregolazione dei recettori cellulari per IFN alfa che porta ad una ridotta espressione epatocitaria degli antigeni HLA con una inefficace citolisi immunitaria. Nei soggetti con infezione da HIV

la viremia è tendenzialmente più elevata con sierconversioni più lente. Secondo altri studi tuttavia, non è stata evidenziata nessuna differenza significativa tra HIV positivi e HIV negativi per quanto riguarda la viremia, il danno epatico e l'evoluzione dell'epatite B con un prolungamento della fase di immunotolleranza soprattutto quando l'infezione da HBV si sviluppi in soggetti già HIV positivi (30). E' stato anche suggerito che gli HIV/HBV positivi possano essere maggiormente infettanti e quindi trasmettere più facilmente HBV (128). Non sembra che la contemporanea infezione da HBV acceleri la progressione verso la malattia conclamata negli HIV positivi (125).

I tossicodipendenti HIV positivi presentano con elevata frequenza una contemporanea infezione da HDV (129) con percentuali, in USA e in Europa fino al 50-70% (125). HDV è dotato di effetto citopatico diretto per cui la presenza di HIV può favorire la replicazione di HDV e il conseguente danno epatico. Nella coinfezione HDV/HIV l'epatite Delta assume un decorso sia sul piano clinico che istologico più aggressivo.

HCV è la principale causa di epatite cronica tra i tossicodipendenti (130) e in presenza di contemporanea infezione da HIV il decorso della malattia epatica appare frequentemente più grave (131,132). La doppia infezione è frequente tra gli HIV positivi con prevalenze di HCV che arrivano al 75% (132). L'aggressività di tale evento è confermata sul piano istologico da una maggiore reazione fibrotica legata direttamente alla presenza di HIV che va ad aumentare ulteriormente il danno epatocitario da HCV (133). Tali dati risultano peraltro ancora contraddittori e non vi è accordo sulla frequenza di cronicizzazione dell'epatite C tra gli HIV positivi, così come il riscontro di maggior danno istologico epatocitario negli HIV positivi non trova concordi tutti gli autori (125).

La coinfezione con HIV sembra potenziare la capacità infettante e replicativa di HCV facilitandone la trasmissione sessuale e verticale (41).

L'ESPERIENZA VERONESE DELLA SEZIONE DI SCREENING HIV

Presso la Sezione di Screening HIV/SerT dell'ULSS 20 è attivo dal 1985 un sistema di monitoraggio per l'infezione da HIV e da virus epatitici tra i tossicodipendenti e tra i soggetti con diverse condizioni a rischio, ai quali era offerto gratuitamente e in anonimato il test per HIV, HBV e HCV.

Si sono così raccolte informazioni attendibili sulla dimensione del problema nell'area veronese attraverso un campione sufficientemente esteso di soggetti con rischio parenterale e sessuale (37, 140). Per l'infezione da HIV ci sembra particolarmente utile poter disporre di indicatori precoci (presenza di Ab anti HIV) senza dover attendere i dati su indicatori tardivi (casi di AIDS), per programmare le strategie sanitarie locali.

Secondo i dati dell'Istituto Superiore di Sanità (134) il biennio 1985-1987 ha rappresentato la fascia temporale in cui l'infezione da HIV si è diffusa con la massima forza in termini di casi incidenti ed ora si sta entrando nella fase endemica sostenuta da tante sacche di microepidemie alimentate, in aree geografiche diverse, da soggetti con rischio diverso. Lo stesso discorso vale anche per le infezioni da virus epatitici che tra i tossicodipendenti è conosciuta da tempo mentre dati minori si hanno su popolazioni a esclusivo rischio sessuale (135) soprattutto sull'infezione da HCV (136-139) in relazione alla frequente asintomaticità per cui, spesso, il rilievo di Ab anti HCV è del tutto fortuito.

Dal giugno 1985 al luglio 1992 sono stati arruolati 6266 soggetti suddivisi in due gruppi: tossicodipendenti del SerT a prevalente rischio parenterale (Gruppo 1) e soggetti a rischio prevalentemente sessuale (Gruppo 2); quest'ultimo è stato suddiviso in due sottogruppi: soggetti eterosessuali (Gruppo 2a) e omosessuali (Gruppo 2b). (tab. I)

Tutti sono stati sottoposti a ricerca di Ab anti HIV. In 3905 sono stati ricercati i markers di infezione da HBV e in 1.455 sono stati ricercati ab anti HCV. Infine in 82 soggetti HBsAg positivi sono stati ricercati gli Ab anti Delta. (tab. II)

L' analisi è stata condotta verificando le prevalenze di infezione da HIV e virus epatitici (tab. III), confrontando i soggetti HIV positivi con quelli HIV negativi (tab. IV e V). Nel gruppo a rischio sessuale sono state raffrontate le prevalenze sierologiche tra eterosessuali (Gruppo 2a) ed omosessuali (Gruppo 2b). (tab. VI)

E' stato considerato l'esito dell'infezione da HBV in relazione alla presenza o assenza di HIV. (tab.VII)

Infine si è valutato il rischio relativo nell'acquisizione dell'infezione da HIV e virus epatitici tra i diversi gruppi (37, 140). (tab. VIII)

I risultati che emergono dal nostro studio confermano come i tossicodipendenti presentino prevalenze notevolmente maggiori rispetto al gruppo a rischio sessuale sia per l'infezione da HIV che per le infezioni da virus epatitici. La prevalenza di markers di avvenuta infezione da HBV in rapporto alla presenza di Ab anti HIV evidenzia in entrambi i gruppi un maggior numero di casi di infezione da HBV tra i sieropositivi a ulteriore conferma che le modalità di trasmissione dei due virus sono analoghe. Per HCV non emergono differenze significative di prevalenza tra HIV positivi e HIV negativi e nell'analisi dei sottogruppi a rischio sessuale emergono maggiori prevalenze tra gli eterosessuali rispetto agli omosessuali. Entrambi questi dati fanno supporre che nella nostra area la diffusione di HCV sia avvenuta in epoca precedente a quella da HBV e HIV, abbia interessato inizialmente il gruppo dei tossicodipendenti poi gli eterosessuali, ove si è potuta diffondere ampiamente anche grazie alla relativa asintomaticità, e da ultimo gli omosessuali che risultano maggiormente protetti forse perchè hanno adottato più precocemente le norme di sesso sicuro in relazione alla maggior "sensibilità" verso il rischio sessuale acquisita già in passato con le infezioni legate a malattie sessualmente trasmesse e poi con l'infezione da HBV e da HIV. Tale ipotesi è coerente con quanto osservato

**Tabella I: Descrizione dei due gruppi di soggetti arruolati
distribuzione per sesso ed età media (DS)**

Gruppo	N	%cGr.*	%cTot.**	Età media	D.S.
1	Maschi	2617	77,5	26,6	5,9
	Femmine	760	22,5	26,4	6,5
	Totale	3377	53,9	26,6	6,2
2	Maschi	1788	61,9	32,7	9,9
	Femmine	1101	38,1	29,2	8,0
	Totale	2889	46,1	31,4	8,9
Totale	6266			28,9	8,3
2a	Maschi	1356	55,2	32,6	9,9
	Femmine	1101	44,8	29,2	8,0
	Totale	2457		31,1	8,8
2b	Maschi	432		32,9	9,9

* percentuale di colonna per gruppo

** percentuale di colonna sul totale

Tabella II: Soggetti esaminati ed esami eseguiti

Gruppo		HIV		HBV		HCV		HDV	
		N	%	N	%	N	%	N	%
1	Maschi	2617	77.5	1248	75.6	666	77.8	36	85.7
	Femmine	760	22.5	403	24.4	190	22.2	6	14.3
	Totale	3377		1651		856		42	
2	Maschi	1788	61.9	1399	62.1	402	67.1	31	77.5
	Femmine	1101	38.1	855	37.9	197	32.9	9	22.5
	Totale	2889		2254		599		40	
Totale		6266		3905	62.3	1455	23.2	82	1.3

Tabella III: Prevalenza delle infezioni da HIV e virus epatitici nei due gruppi

		Gr.1		Gr.2		Tot.	
		N	%	N	%	N	%
HIV	Pos.	707	20.9	93	3.2	800	12.8
	Neg.	2670	79.0	2796	96.8	5466	87.2
	Totale	3377		2889		6266	
HBV	Pos.	1098	66.5	521	23.1	1619	41.5
	Neg.	553	33.5	1733	76.9	2286	58.5
	Totale	1651		2254		3905	
HCV	Pos.	622	72.7	54	9.0	676	46.5
	Neg.	234	27.3	545	91.0	779	53.5
	Totale	856		599		1455	
HDV	Positivi	25	59.5	1	2.5	26	31.7
	Negativi	17	40.5	39	97.5	56	68.3
	Totale	42		40		82	

Tabella IV: Prevalenza di markers per HBV nei due gruppi e relazione con infezione da HIV

		Sogg.		HBV+		Diff. HIV+/HIV-
		N	%	N	Prev.	
Gruppo 1	HIV+	380	23	335	88.2	Chi2 = 102.63 p = .001
	HIV-	1271	77	763	60.0	
	Totale	1651		1098	66.5	
Gruppo 2	HIV+	87	3.9	50	57.5	Chi2 = 58.11 p = .001
	HIV-	2167	96.1	471	21.7	
	Totale	2254		521	23.1	
Totale		3905		1619	41.4	

Analisi di prevalenza di markers per HBV nei due gruppi:

Chi2 797.46 p= .001

Commento: in entrambi i gruppi la prevalenza di markers per HBV é significativamente più elevata nei soggetti HIV+; il confronto tra i due gruppi mostra che la prevalenza di infezione sia da HIV che da HBV é maggiore nel gruppo 1

Tabella V: Prevalenza di markers per HCV nei due gruppi e relazione con infezione da HIV

		Sogg.		HCV+		Diff. HIV+/HIV-
		N	%	N	Prev.	
Gruppo 1	HIV+	214	25,0	170	79,4	Chi2 = 6.15 p = .01
	HIV-	642	75,0	452	70,4	
	Totale	856		622	72,7	
Gruppo 2	HIV+	59	9,8	9	15,3	Chi2 = 2.32 p = n.s.
	HIV-	540	90,2	45	8,3	
	Totale	599		54	9,0	
Totale		1455		676	46,5	

Analisi di prevalenza di markers per HCV nei due gruppi:

Chi2 = 571 p= .0000001

Commento: l'analisi della tabella ci consente di rilevare come nel gruppo a rischio parenterale la prevalenza di HCV nei soggetti HIV positivi sia significativamente maggiore rispetto agli HIV negativi ;tale differenza non si riscontra nel gruppo a rischio sessuale. La differenza di prevalenza tra i due gruppi é statisticamente significativa.

Tabella VI: Prevalenza delle infezioni da HIV e virus epatitici nel Gruppo 2

		Gr.2a		Gr.2b		Tot.		Differenza Gr2a/Gr2b
		N	%	N	%	N	%	
HIV	Pos.	40	1.6	53	12.3	93	3.2	Chi2 = 130.13 p < .0000001
	Neg.	2417	98.4	379	87.7	2796	96.8	
	Tot.	2457		432		2889		
HBV	Pos.	362	19	159	45.5	521	23.1	Chi2 = 115.56 p < .0000001
	Neg.	1543	81	190	54.5	1733	76.9	
	Tot.	1905		349		2254		
HCV	Pos.	45	10.5	9	5.2	54	9.0	Chi2 = 3.68 p = n.s.
	Neg.	381	89.5	164	94.8	545	91.0	
	Tot.	426		173		599		
HDV	Pos.	0	0.0	1	9.1	1	2.5	
	Neg.	29	100.0	10	90.9	39	97.5	
	Tot.	29		11		40		

Tabella VII: Valutazione sierologica dell'esito dell'infezione da HBV

		Cronici		HBs Ag neg HBs Ab pos HBc Ab pos		HBs Ag neg HBs Ab neg HBc Ab pos		Differenza HIV+ / HIV-
		N	%r	N	%r	N	%r	
Gr. 1	HIV+	19	6.1	148	47.1	147	46.8	Chi2 = 16.63 p = .0002
	HIV-	71	10.3	383	55.7	234	34.0	
	Totale	90	9.0	531	53.0	381	38.0	
Gr. 2	HIV+	6	13.0	31	67.4	9	19.6	Chi2 = .14 p = n.s
	HIV-	48	11.8	286	70.1	74	18.1	
	Totale	54	11.9	317	69.8	83	18.3	
Totale	HIV+	25	6.9	179	49.7	156	43.4	
	HIV-	119	10.8	669	61.0	308	28.2	
	Totale	144	9.9	848	58.2	464	31.9	
Gr. 2a	HIV+	2	13.3	8	53.3	5	33.3	Chi2 = 1.7 p = n.s.
	HIV-	38	13.1	195	67.2	57	19.7	
	Totale	40	13.1	203	66.6	62	20.3	
Gr. 2b	HIV+	4	12.9	23	74.2	4	12.9	Chi2 = 10.57 p = n.s.
	HIV-	10	8.5	91	77.1	17	14.4	
	Totale	14	9.4	114	76.5	21	14.1	

Tabella VIII: Acquisizione dell'infezione da HIV e virus epatitici B e C: Valutazione del rischio relativo tra i diversi gruppi

		Gruppo 1		Gruppo 2a		Gruppo 2b	
		RR	limiti conf.	RR	limiti conf.	RR	limiti conf.
Gruppo 1	HIV			1,80	1,75-1,86	1,06	1,04-1,09
	HBV			2,86	2,64-3,08	1,17	1,12-1,23
	HCV			2,45	2,21-2,71	1,69	1,55-1,84
Gruppo 2a	HIV	0,11	0,08-0,15			0,50	0,39-0,63
	HBV	0,34	0,31-0,37			0,77	0,73-0,82
	HCV	0,11	0,08-0,14			1,18	1,03-1,35
Gruppo 2b	HIV	0,57	0,43-0,75	4,27	3,50-5,22		
	HBV	0,50	0,42-0,61	2,81	2,34-3,38		
	HCV	0,04	0,02-0,07	0,59	0,33-1,05		

per l'infezione da virus delta non è stato riportato il valore del rischio relativo in quanto non calcolabile per la ridotta numerosità del campione considerato

da altri autori nell'infezione da HBV tra gli omosessuali (16) .

La valutazione dell'esito dell'infezione da HBV evidenzia come la guarigione con sviluppo di titoli anticorpali protettivi è meno frequente tra i tossicodipendenti e principalmente tra gli HIV positivi. Ciò è facilmente riferibile a condizioni generali più scadenti e allo stato di immunodepressione legato alla continua stimolazione antigenica a cui sono sottoposti con l'uso parenterale della droga (29,141). Il deficit immunitario cellulare e umorale tipico dell'infezione da HBV conferma anche i maggiori insuccessi delle profilassi vaccinali tra i sieropositivi (166).

Nel nostro studio, in contrasto con quanto atteso, la persistenza di HBsAg tra i tossicodipendenti evidenzia basse prevalenze di cronicizzazione soprattutto tra gli HIV positivi.

Le valutazioni del rischio relativo (RR) di acquisizione delle infezioni considerate è in accordo con quanto risulta dalle analisi di prevalenza ed evidenza, come atteso, RR maggiori per il comportamento tossicomane rispetto al rischio sessuale; tale indice è elevato soprattutto per i virus epatitici e in particolare per HCV. La stessa analisi condotta tra i due sottogruppi a rischio sessuale (Gruppo 2b rispetto a Gruppo 2a) ricalca le considerazioni precedenti con RR maggiore per HIV ed HBV e, risultato inatteso, rischio minore per HCV. Va segnalato che, relativamente alle infezioni da HIV e HBV, il confronto tra Gruppo 1 e Gruppo 2b non evidenzia RR sostanzialmente diverso confermando quindi una "efficienza" analoga delle vie di trasmissione parenterale e omosessuale.

E' stata eseguita anche un'analisi dei tassi annui di comparsa di markers per HBV e di HCV da cui si è evidenziato un tasso medio annuo rispettivamente di 3.7% e 6.69%.

IMMUNOPROFILASSI

Un preciso programma di prevenzione dell'epatite virale rappresenta un momento operativo fondamentale nel piano sanitario del SerT. La vaccinazione contro HBV è in questo senso solo una tappa, concreta e facilmente realizzabile, di un più ampio progetto di educazione sanitaria. Per HCV, al contrario, il traguardo vaccinale è ancora lontano ed è pertanto necessario che, oltre allo screening, si insista su programmi di educazione alla salute, gli unici, per ora, che si sono dimostrati in grado di limitare la diffusione dell'infezione attraverso una modificazione dei comportamenti a rischio.

In questo piano non va dimenticata la presenza di epatiti a trasmissione orofecale. Le misure di risanamento ambientale rappresentano il primo presidio in grado di far crollare in maniera drammatica l'incidenza delle epatiti sostenute da HAV. Le Ig Standard somministrate precocemente danno una protezione per circa 5 mesi nell'80-90% dei casi (33,142,143). Sarà disponibile in Italia all'inizio del 1995 un vaccino preparato con virus inattivato. Somministrato in tre dosi a 0, 1 e 6 mesi conferirebbe un'immunità per al-

meno 10 anni (21,144).

1. Immunoprofilassi contro HBV (13,14,33)

a. Immunoprofilassi passiva

Per la disponibilità del vaccino è ormai limitata alla profilassi post-esposizione e nella profilassi della trasmissione verticale (145).

b. Immunoprofilassi attiva

Dal maggio 1991 è operativa la legge che sancisce l'obbligatorietà della vaccinazione contro HBV per i neonati e gli adolescenti al 12° anno di età (14,146). La vaccinazione è inoltre offerta gratuitamente ai tossicodipendenti e a tutti i gruppi a rischio per ragioni occupazionali, sociali o comportamentali. Con questo programma vaccinale nel 2003, 12 anni dopo l'inizio della sua attuazione, tutti i giovani di età compresa tra 0 e 24 anni dovrebbero essere protetti contro HBV.

Il vaccino è costituito da HBsAg purificato in grado di stimolare la produzione di Ab neutralizzanti, gli unici in grado di conferire una protezione nei confronti dell'infezione.

Attualmente si usano vaccini ricombinanti in grado di indurre una risposta anticorpale del tutto equivalente a quella del vaccino plasma-derivato che può essere utilizzato in seconda battuta qualora al non responder sia assolutamente indicata la vaccinazione. L'efficacia dello schema di vaccinazione con tre somministrazioni di 20 mcg im nella regione deltoidea a 0, 1 e 6 mesi è superiore al 90% nell'adulto immunologicamente competente e al 95% in età pediatrica ed è espressa da un titolo protettivo di HBsAb > 10 mUI/ml (147,148). Nei soggetti con infezione da HIV conviene usare lo schema 0,1, 2, 6 o 12 mesi o utilizzare una dose doppia rispetto a quella utilizzata per l'adulto normori-spondente.

Il vaccino ricombinante è un prodotto sicuro e gli effetti collaterali sono solitamente assenti. Oltre a rare reazioni locali in sede di iniezione eventualmente accompagnate da transitoria risposta febbrile sono stati segnalati rarissimi casi di sindrome di Guillain Barré. Vi è inoltre segnalazione di casi sporadici di reazioni a impronta autoimmunitaria.

Tra i 7 e 9 anni il titolo anticorpale si riduce, tuttavia livelli anticorpali protettivi sono presenti dal 50 al 90% dei soggetti immunocompetenti seguiti per 9 anni (147,149-151).

Nonostante la riduzione dei livelli anticorpali, i vaccinati sembrano rimanere immuni nei confronti di HBV probabilmente per la "memoria immunologica" linfocitaria, che è in grado di indurre una protezione adeguata nel caso di un nuovo contatto anche in

assenza di Ab dosabili (147,149).

Il 10-15% dei vaccinati non sviluppa una risposta anticorpale adeguata probabilmente per una diversa reattività determinata su base genetica. Tale percentuale sale tra i tossicodipendenti e gli HIV positivi così come tra i portatori di malattie croniche e sottoposti a terapia immunosoppressiva.

Circa il 50% dei soggetti che non mostrano una risposta anticorpale protettiva rispondono dopo una o due dosi di richiamo somministrate a distanza di un mese una dall'altra. Se il controllo sierologico non evidenzia risposta anticorpale dopo due dosi è improbabile che ulteriori richiami siano efficaci.

Rimane aperto il problema dei soggetti che hanno acquisito l'infezione per via naturale ed hanno sierconvertito per HBsAb. Anche in questi, il titolo anticorpale scende nel tempo a valori "non protettivi", ma l'orientamento generale è quello di non vaccinare ritenendo comunque valida la memoria immunologica in grado di dare risposta protettiva se ristimolata dal contatto con HBV. Comunque la vaccinazione non è dannosa e fungerà da "richiamo" con una vivace produzione di HBsAb. Anche per i pazienti portatori di HCV, se esiste il rischio di infezione da HBV, la vaccinazione è indicata.

c. profilassi postesposizione

E' indicata nei soggetti che riferiscono rapporti sessuali o contatti accidentali con soggetti infetti o potenzialmente infetti. Il paziente viene testato per HBsAb e Ab anti HIV e va ottenuto, se possibile, il consenso informato da parte del soggetto potenzialmente infettante ad un controllo sierologico. L'esposto va comunque subito trattato con gammaglobuline umane specifiche (HBIG) e contemporaneamente va iniziato ciclo vaccinale secondo il protocollo rapido (0,1 e 2 mesi seguito da richiamo a 12 mesi). Qualora il soggetto esposto presentasse HBsAb a titolo protettivo o a titolo inadeguato l'intervento va sospeso rispettivamente dopo la somministrazione di gammaglobuline o della prima dose vaccinale che, nei portatori di titolo anticorpale non protettivo, assume il significato di dose di richiamo (152).

2. Immunoprofilassi contro HDV

La profilassi contro HDV si basa sulle norme di profilassi primaria e sulla vaccinazione contro HBV. Non sono in commercio Ig specifiche (33).

3. Immunoprofilassi contro HCV

La difficoltà nell'allestimento di un vaccino è legata da una parte alla variabilità antigenica dei diversi ceppi virali e dall'altra al fatto che ad oggi non sono stati trovati Ab neutralizzanti nei confronti di HCV (120, 154). La presenza di regioni ipervariabili nel

rivestimento proteico virale giustifica l'assenza di una risposta neutralizzante. La persistenza virale pare legata alla selezione di varianti di HCV per la pressione selettiva dell'immunità umorale.

Per HCV pertanto la profilassi primaria aspecifica assume un'importanza fondamentale.

Un problema particolare riguarda le corrette indicazioni da offrire al partner di un paziente HCV positivo e alle coppie a sierologia discordante, dove la partner femminile sia HCV negativa, che chiedono informazioni sulla possibilità di avere una gravidanza sicura.

La trasmissione per via sessuale (pur con efficienza minore rispetto ad HBV) è evento accertato (83,136-139) e l'uso del profilattico (120,139,153) incontra resistenze tra i tossicodipendenti che spesso presentano scarsa compliance già di fronte al problema della protezione contro HIV. E' stata proposta la somministrazione periodica di gammaglobuline umane normali al partner esposto (155-157) e diversi lavori sembrano confermarne l'effetto protettivo (158-160). Mancano tuttavia risultati ottenuti con studi randomizzati contro placebo che confermino la validità di tale indicazione.

Circa la possibilità di una gravidanza sicura non esistono al momento mezzi certi per prevedere o escludere la probabilità di infezione. E' importante responsabilizzare la coppia esponendo in modo chiaro le notizie scientifiche a riguardo. Drammatizzazioni o atteggiamenti assolutamente tranquillizzanti non servono. L'assenza di rischio infettivo per via sessuale non esiste ma sicuramente l'uso del profilattico durante la gravidanza garantisce un'abbattimento della possibilità di infezione alla madre la conseguente trasmissione verticale. Se il partner è portatore di un'epatite cronica ed è candidato all'IFN o quando è la donna stessa ad esserlo, consigliamo di rimandare la gravidanza alla fine del trattamento in considerazione del fatto che, se vi è buona risposta all'IFN, la viremia si riduce o scompare abbattendo in maniera drastica il rischio di infezione per via sessuale e verticale.

4. La vaccinazione contro HBV nei tossicodipendenti

Il 90% dei tossicodipendenti che hanno usato droghe per via iniettiva per 2-3 anni sono portatori di markers di infezione da HBV (29) con un elevato rischio di cronicizzazione con persistenza del serbatoio virale (29). Ciò è legato alla immunocompromissione dovuta da una parte alle sostanze stupefacenti e dall'altra alla frequente infezione da HIV (30). Lo stile di vita che rende spesso difficile il rispetto del calendario vaccinale, la scarsa immunogenicità del vaccino che richiede almeno tre somministrazioni e la ridotta risposta protettiva rispetto alla popolazione generale (161), pongono il problema di creare per questi soggetti un protocollo specifico per ottenere una protezione in tempi più brevi.

Presso la Sezione di Screening HIV dell'ULSS 20 è stata attivata una campagna vaccinale per HBV che prevedeva come target oltre ai tossicodipendenti del SerT anche soggetti a rischio sessuale, conviventi di HBsAg, vittime di punture accidentali, viaggiatori in zone ad alta endemia per HBV oltre al personale sanitario non ancora vaccinato (147,150,162,163).

Sono stati esclusi i portatori di malattie acute, i soggetti con compromissione cardiopolmonare, coloro per i quali una reazione febbrile poteva rappresentare un rischio significativo o che riferivano un'ipersensibilità verso i componenti del vaccino.

All'arruolamento, compilato il foglio anamnestico, veniva consegnato un dépliant informativo e una scheda per il consenso informato. La valutazione degli effetti collaterali veniva raccolta su apposita scheda all'atto del richiamo vaccinale.

Nei soggetti con infezione da HIV e persistenza di comportamenti a rischio è comunque indicata la vaccinazione (162,164-166) ma la risposta attesa è minore con una sieroconversione ad HBsAb nel 50-70% dei casi ed una minor durata dell'effetto protettivo (30,164,166). Un'infezione da HBV può tra l'altro aggravare la condizione clinica generale e condizionare la malattia di base (30). La vaccinazione previene anche l'infezione da HDV nei confronti della quale gli HIV positivi sembrano essere a maggior rischio (129). Lo stimolo antigenico vaccinale non influisce negativamente sulla progressione ad AIDS in questi pazienti (167). Poiché la risposta anticorpale inefficace è correlata con il grado di immunodeficit la vaccinazione andrebbe proposta il più precocemente possibile.

Come già ricordato gli HIV positivi, soprattutto se tossicodipendenti, sono soggetti low o non responders e, qualora la risposta sia inadeguata dopo un ciclo completo con due somministrazioni di richiamo, può essere preso in considerazione l'uso di vaccini maggiormente immunogeni (plasma derivati, ricombinanti S-preS) (168,169) o di ricombinanti a dosi più elevate (40 mgr). Anche il protocollo a 4 somministrazioni (0, 1, 2 e 12 mesi) che presenta da un lato il vantaggio di una protezione più rapida e dall'altro quello di un tasso di sieroconversione per HBsAb più elevato (170) o somministrazioni più ravvicinate (0,1,2 e 6 mesi) sono strategie da tenere in considerazione.

L'uso del vaccino in gravidanza è consigliato solo di fronte ad un rischio effettivo di infezione e comunque quando gli eventuali effetti collaterali rappresentino un "male minore" rispetto alla possibilità di infezione materna.

Analogamente a quanto consigliato per altri gruppi di soggetti immunodepressi (147), nel caso di tossicodipendenti o di soggetti HIV positivi conviene effettuare lo screening per HBsAb ogni anno somministrando una dose di richiamo quando il titolo anticorpale scenda sotto 10 mUI/ml.

L'impressione derivata dall'esperienza pratica nella vaccinazione dei tossicodipendenti è che questa provochi una risposta protettiva con caratteristiche differenti rispetto

alla popolazione generale.

Utilizzando il protocollo standard (0, 1, 6 mesi) sicuramente la risposta anticorpale tra i tossicodipendenti è inferiore alla popolazione generale (161) e l'iporesponsività non sembra influenzata dal tipo di vaccino o da un'eventuale doppia dose iniziale. Solo dopo 4 dosi di vaccino (0, 1, 2, 6 o 12 mesi) il numero dei responders diviene sovrapponibile a quello della popolazione generale (141).

I comportamenti correlati alla tossicodipendenza (abuso di alcool, fumo e risposta allo stress) ed il contatto con agenti che inducono una stimolazione antigenica continua condizionano un deficit di risposta immune con un difetto di presentazione dell'antigene ai linfociti T, una loro modificazione funzionale e con la presenza di fattori solubili ad azione immunosoppressiva (141,171) che sono stati chiamati in causa anche per spiegare la minor responsività al vaccino degli omosessuali (150). Infine va considerato che in popolazioni ad alta circolazione virale come i tossicodipendenti, il deficit di risposta possa essere correlato ad infezione latente da HBV con tolleranza verso antigeni virus-specifici (172) o ad un particolare fenotipo virale (173).

TERAPIA DELLE EPATITI VIRALI

1. Premesse

La terapia va presa in considerazione in pazienti con replicazione virale attiva e dimostrazione biochimica e istologica di danno epatocellulare (174,175).

Gli obiettivi a breve termine sono l'eliminazione precoce del virus dal sangue e dal fegato e la clearance permanente degli epatociti che sostengono la replicazione virale.

A lungo termine si mira ad un controllo della necrosi epatocitaria e dei segni biochimici di flogosi oltre che alla prevenzione della modificazione maligna degli epatociti.

Quando interveniamo su un tossicodipendente è necessario, prima di attivare un tentativo terapeutico specifico, sgomberare il campo da tutte le cause di danno epatico non virali, in primis l'abuso di alcool e di farmaci, responsabilizzando il paziente sulla necessità di arrivare ad una diagnosi etiologica precisa. Solo quando il paziente sospenderà l'abuso alcolico e farmacologico sarà possibile procedere ad un piano terapeutico specifico in relazione al danno residuo.

2. Opzioni terapeutiche

Gli immunostimolatori come IL2 e soprattutto alfa 1 timosina, sembrano aver dato risultati promettenti nell'epatite B anche se solo a livello sperimentale (176); al contrario i corticosteroidi non hanno dato effetti clinici positivi e la reazione immunitaria che si at-

tiva alla loro sospensione può dare gravi recidive sia per l'epatite B che per l'epatite C. Da definire il ruolo dell'Acido Ursodesossicolico, utilizzato da alcuni autori nell'epatite cronica C con un decremento significativo delle ALT e suggerito come "immunomodulatore" in grado di ridurre l'espressione degli antigeni HLA (177); non è chiaro se la riduzione delle transaminasi si accompagna ad un effettivo miglioramento del quadro istologico. Aciclovir è stato usato per l'epatite B ma vi sono scarse sperimentazioni controllate mentre è risultato inefficace per l'epatite C. Sono in corso studi con la Ribavirina che potrebbe avere un ruolo associata ad IFN nei non responders con epatite C e nei confronti di mutanti di HBV resistenti all'IFN.

Tra gli antivirali, IFN è il più studiato, ed ha le migliori potenzialità terapeutiche essendo l'unico a stimolare la naturale evoluzione della risposta organica all'infezione. I tassi attuali di risposta non appaiono migliorabili con una monoterapia anche usando protocolli diversi ed è importante identificare altri agenti che possono potenziare gli effetti di IFN agendo su siti di replicazione diversi.

3. Interferoni

Sono citochine, sostanze a cui è affidata la comunicazione tra cellule, di natura proteica prodotte da alcuni tipi cellulari a seguito di stimolazione virale, batterica, da cellule estranee o da macromolecole.

a. Biologia degli interferoni

Sono stati caratterizzati tre tipi di IFN (178):

- Alfa, prodotto da monociti, linfociti e cellule NK, presente in almeno 22 sottotipi.
- Beta, prodotto da fibroblasti e da cellule epiteliali, rappresentato da 2 sottotipi.
- Gamma, prodotto da linfociti T e cellule NK, rappresentato da un unico tipo di glicoproteina.

Gli IFN beta, gamma e 9 sottotipi dell'alfa sono glicoproteine, i rimanenti sottotipi dell'alfa sono molecole proteiche. IFN alfa e beta si legano allo stesso recettore mentre IFN gamma si lega a recettori diversi. IFN induce resistenza cellulare all'infezione virale e potenzia le reazioni immunitarie; tutto ciò si traduce in un'esaltazione dell'attività antivirale, antiproliferativa e immunoregolatrice.

IFN non possiede attività antivirale diretta ma promuove nella cellula con cui viene a contatto la produzione di proteine "effettrici" che inibiscono la sintesi proteica virale e inducono modificazioni della membrana cellulare che impediscono il rilascio del virus dalla cellula.

Il blocco della sintesi proteica spiega anche l'attività antiproliferativa che tramite un'azione citostatica influenza l'espressione di oncogeni e interagisce con i fattori di cre-

Le epatiti virali nel tossicodipendente

scita (180).

L'azione immunomodulatrice è mediata dalla produzione e dall'espressione delle proteine di classe I dell'MHC che favorisce il riconoscimento delle cellule virus-infettate da parte di linfociti T citotossici. Inoltre IFN attiva direttamente i linfociti T citotossici incrementando l'attività fagocitaria dei macrofagi e l'attività citotossica dei linfociti NK (181).

Nelle epatiti virali il presidio terapeutico di elezione è considerato l'IFN alfa (ricombinante o linfoblastoide) (179). L'IFN beta è stato usato in pochi studi clinici e i risultati sembrano sovrapponibili a quelli ottenuti con IFN alfa (182).

In commercio sono disponibili quattro tipi di IFN alfa: due IFN alfa ricombinanti (alfa- 2a e alfa- 2b differenti per un solo aminoacido) e due IFN alfa estrattivi (linfoblastoide e leucocitario). IFN alfa ricombinante è rappresentato da un solo tipo di IFN mentre la forma linfoblastoide contiene una miscela di 13 diversi IFN.

b. Indicazioni cliniche

Con un provvedimento pubblicato in G. U. del 7.3.1994 la Commissione Unica del Farmaco ha introdotto per IFN un sistema di sorveglianza per i pazienti trattati istituendo il registro ULSS e inquadrando la prescrivibilità dei diversi tipi di IFN per le epatiti virali croniche (183). Il prescrittore è tenuto a segnalare all'ULSS l'uso del farmaco riportando i dati del paziente, la diagnosi precisa e il programma terapeutico. La scheda di segnalazione copre 6 mesi di terapia e nei trattamenti più prolungati è prevista la compilazione di una nuova scheda alla scadenza di ogni semestre. Secondo tali normative (note 52 e 53) l'IFN alfa ricombinante è di prima scelta, gli IFN naturali (linfoblastoide e leucocitario) divengono di seconda scelta e vanno utilizzati solo in presenza di inefficacia documentata ai primi. L'IFN beta è limitato solo ai casi intolleranti agli IFN alfa ricombinanti e naturali.

L'uso nelle epatiti acute è ancora controverso, per ora sembrano prevalere ancora le controindicazioni alimentate tra l'altro dalle possibili reazioni autoimmuni amplificate dall'uso di IFN. Il problema non si pone in pazienti con infezione da HBV o HBV e HDV perché il rischio della cronicizzazione è molto basso mentre l'interesse reale riguarda l'epatite C e l'epatite Delta da sovrainfezione ove le probabilità di cronicizzazione sono elevate.

Per l'epatite C acuta alcuni risultati incoraggianti derivano da studi giapponesi (184-186) che suggeriscono di iniziare la terapia precocemente con posologia e schemi terapeutici analoghi a quelli proposti per l'epatite cronica. Non è ancora chiaro se IFN usato in fase acuta possa avere ugualmente effetti a lungo termine.

Nelle epatiti croniche IFN ha indotto in una percentuale significativa di casi la scomparsa di alcuni o anche di tutti i marcatori di infezione con cessazione della replica vira-

le, normalizzazione delle transaminasi e miglioramento del quadro istologico. Rimane ancora aperta la valutazione a lungo termine della terapia. Globalmente possiamo considerare che rispondono significativamente il 40% delle epatiti B tipiche ed il 25% delle epatiti C. Per HCV non esiste ancora un sistema standardizzato per tipizzare i genotipi e per quantificare la concentrazione di HCV RNA sierico; quando l'identificazione di questi due parametri diventerà di uso comune il clinico sarà in grado di razionalizzare l'uso di IFN e di definire i protocolli più adeguati che porteranno, selezionando i pazienti all'ingresso, a probabilità di risposta superiore (109).

Poichè IFN è attivo solo in una parte dei casi, non è privo di effetti collaterali, ha un lungo tempo terapeutico, non esistono informazioni sugli effetti a lungo termine ed è gravato da un notevole costo, è importante seguire criteri di selezione precisi dei candidati e standardizzare le dosi e la durata della terapia. La principale difficoltà per valutare in uno studio retrospettivo l'efficacia dell'IFN è data dall'estrema eterogeneità dei protocolli sin qui seguiti e dalla mancata standardizzazione dei criteri utilizzati per la valutazione della risposta terapeutica (solo transaminasi, transaminasi e viremia, transaminasi, viremia e Ab antivirali, lunghezza del follow up).

c. Modalità di reclutamento

CRITERI DI INCLUSIONE: presenza di marcatori virali di infettività, conferma istologica di epatite cronica attiva o cirrosi in fase iniziale con aumento delle transaminasi sieriche di almeno due volte la norma da oltre un anno. La conferma istologica può essere omessa nei casi in cui vi sono controindicazioni importanti per difetto dell'emostasi

CRITERI DI ESCLUSIONE: malattie autoimmuni, etilismo in atto, tossicodipendenza attiva, gravidanza, patologia tiroidea, cirrosi in fase avanzata, neoplasie, epatopatia acuta, ipertransaminasemia modesta (inferiore al doppio dei valori normali), importante stato depressivo, mielodepressione ($PLT < 50.000 \text{ mm}^3$), insufficienza renale, grave cardiopatia, tesaurismi.

Il problema dell'autoimmunità riguarda principalmente l'infezione da HCV: la presenza di auto Ab anti nucleo e/o muscolo liscio a basso titolo ($< \text{o uguali a } 1:80$) non esclude il trattamento con IFN. Se al contrario i pazienti sono LKM positivi o con Ab antinucleo o anti muscolo liscio positivi ad alto titolo, e il tentativo terapeutico sia necessario, è opportuno pretattare con un breve ciclo steroideo e passare a IFN solo se la prima terapia non ha dato risultati mantenendo un monitoraggio molto stretto.

La tossicodipendenza attiva e l'etilismo rappresentano criteri di esclusione dalla terapia e aprono problematiche particolari nella gestione di un paziente che ha tutte le indicazioni cliniche per essere trattato ma non può garantire una compliance adeguata. Quando si riesce a motivare in modo adeguato il paziente, spiegando le aspettative ed i limiti

Le epatiti virali nel tossicodipendente

della terapia, può attivarsi una responsabilizzazione che conduce in tempi inaspettati ad una sospensione della dipendenza. E' necessario comunque lasciar passare un tempo adeguato tra la fine della dipendenza attiva e l'introduzione dell'IFN. In questa fase di attesa si deve essere particolarmente presenti e non solo con atti medici. Seguendo questa linea abbiamo ottenuto l'adesione di pazienti che, interrotta l'abitudine tossicomane, sono stati poi avviati alla terapia con successo.

d. Protocolli diagnostici

Dopo aver effettuato lo screening di primo livello con ricerca di: HBsAg, HBsAb, HBcAb, HCVAb

EPATITE CRONICA DA HBV

HBsAg positivo da almeno 6 mesi:

HBeAg *, HBeAb, Ab anti delta, HBcIgM *, HBV Dna

GOT, GPT, gammaGT, PT, proteine totali e frazionate, CHE, ALP, bilirubinemia, colesterolemia, emocromo, IgG IgA IgM

ecografia epatica

* se HBeAg e/o HBcIgM positivo oppure in presenza di prove di funzionalità epatica alterate con HBeAb positivo: ripetizione dei markers sierologici (per valutare eventuali sieroconversioni HBsAg > HBsAb).

EPATITE CRONICA DA HDV

HBsAg positivo e Ab anti delta positivo da almeno 6 mesi :

HBeAg, HBeAb, HBcIgM, HDV Rna

GOT, GPT, gammaGT, PT, proteine totali e frazionate, CHE, ALP, bilirubinemia, colesterolemia, emocromo, IgG IgA IgM

ecografia epatica

EPATITE CRONICA DA HCV

se HCV Ab positivo da almeno 6 mesi :

GOT, GPT, gammaGT, PT, proteine totali e frazionate, CHE, ALP, bilirubinemia, colesterolemia, emocromo, IgG IgA IgM *.

PCR per HCV

ecografia epatica

* ripetizione dei markers sierologici dopo 6-12 mesi (possibili negativizzazioni anticorpali) e dei parametri di funzionalità epatica con frequenze almeno trimestrali.

e. Protocollo preterapia in pazienti con epatite virale cronica

GOT*, GPT*, gamma GT, PT, APTT, proteine totali e frazionate, CHE, ALP, bilirubina totale e frazionata, LDH, aptoglobina, alfa1 antitripsina, transferrina, colesterolemia, sideremia

* le transaminasi devono essere aumentate di 2- 2,5 volte rispetto al valore normale

emocromo, VES, elettroliti, sideremia, cupremia, alfa-fetoproteina, fosforemia, Ab anti HIV, VDRL, Ab anti Herpes, Ab anti Epstein Barr, Ab anti CMV, Ab anti HAV, Ab anti toxo, Ab anti rubeo

Ab anti nucleo (ANA), Ab anti nucleo estraibile (ENA)*, Ab anti mitocondrio (AMA), Ab anti muscolo liscio (ASMA), Ab anti cellule parietali (PCA), ICC, C3, C4, IgG, IgA, IgM, Ab anti microsomi epatici e renali (LKM**)

* gli ENA vengono ricercati solo in presenza di ANA positivi

** se HCV positivo

T3, T4, FT4, TSH , Ab anti tiroide (Ab anti microsomi, Ab anti colloide)

creatininemia, azotemia, esame urine

glicemia *, uricemia, colesterolemia, trigliceridemia

* se sospetto diabete o IGT eseguire curva da carico

ricontrollo ecografico, biopsia epatica

ricontrollo sierologia (con titolo) e viremia (con dosaggio quantitativo)

ECG, EEG

visita medica

f. Monitoraggio della terapia con IFN

La valutazione della risposta terapeutica si gioca su diversi livelli che andrebbero controllati con periodicità (tabella IX). Le transaminasi, come misura indiretta della necrosi epatocitaria, sono tuttora utilizzate per valutare l'efficacia dei protocolli terapeutici considerando responders i pazienti che normalizzano i valori sierici delle transaminasi durante la terapia. La viremia come misura della replicazione virale andrebbe valutata possibilmente con un dosaggio quantitativo. Gli Ab antivirali, quando le transaminasi sono normalizzate rappresentano il parametro più sicuro per la determinazione dell'efficacia della terapia e della possibilità di recidive. Infatti la caduta del titolo e la negativizzazione di IgM anti HBc, IgM anti D e anti NS4 e NS5, esprimono la caduta della risposta immunologica antivirale in grado di determinare con buona approssimazione la risoluzione dell'epatite e la mancanza di recidive al follow up (109, 205).

I pazienti responsivi presentano inoltre un miglioramento del quadro istologico. La valutazione viene effettuata con biopsia, prima ed eventualmente dopo terapia, seguendo il metodo di stima semiquantitativa dell'attività lobulare, della fibrosi e dell'attività portale e periportale. L'analisi dei parametri istologici mostra una regressione dell'infiam-

Tabella IX: Protocollo di monitoraggio della terapia con IFN

1 - mensilmente*	<ul style="list-style-type: none">- emocromo- esami di funzionalità epatica e renale- controllo clinico per la valutazione di:<ul style="list-style-type: none">1. segni di resistenza alla terapia2. eventuali effetti collaterali
* nel primo mese di terapia i controlli vengono effettuati ogni due settimane	
2- ogni tre mesi	<ul style="list-style-type: none">- esami del punto 1- ricontrollo sierologico (con titolo)- esami di funzionalità e autoimmunità tiroidea
3- al sesto mese	<ul style="list-style-type: none">- esami di funzionalità epatica- ricontrollo sierologico *- viremia **- markers di autoimmunità tiroidea e generale- Ab anti LKM ***
* possibilmente con titolo	
** HCV- RNA con PCR, HBV-DNA, HDV-RNA	
*** se epatite da HCV	
4- alla fine del trattamento	<ul style="list-style-type: none">- transaminasi *- ripetere le indagini sierologiche **- esami di funzionalità e autoimmunità tiroidea- biopsia epatica ***- viremia
* una volta al mese per 6 mesi e poi ogni 3 mesi fino a due anni	
** possibilmente con titolo ogni 3-6 mesi fino a due anni	
*** se il paziente non ha risposto alla terapia il quadro istologico non è verosimilmente cambiato e non risulta quindi utile ribiopsiare. Se vi è stata normalizzazione delle transaminasi vi è un contemporaneo sostanziale miglioramento dell'istologia e può non aver nessun significato ribiopsiare il paziente che ha risposto alla terapia.	
5- a un anno di distanza dalla cessazione della terapia	ripetere gli esami del punto 3

mazione portale, una diminuzione del danno lobulare ed una riduzione dell'estensione della necrosi piecemeal; frequentemente la risposta sulla fibrosi appare meno evidente (187).

Sono di seguito riportati i principali effetti collaterali della terapia con IFN (tabella X).

Tabella X: Effetti Collaterali della terapia con IFN

Sintomi similinfluenzali *:	febbre, astenia, cefalea, mialgie, artralgie
Sintomi cardiocircolatori:	ipertensione ** tachicardia/aritmie ** angina/infarto
Sintomi neurologici:	sonnolenza confusione mentale depressione fino a psicosi *** agitazione psicomotoria - convulsioni nausea - diarrea
Sintomi mielodepressivi:	leucopenia, piastrinopenia ****
Fenomeni autoimmunitari:	epatiti autoimmuni psoriasi tiroiditi autoimmuni, diabete mellito insufficienza renale acuta
Altro:	calo ponderale, riduzione della libido
<p>* hanno tendenza alla scomparsa spontanea in 1-2 settimane dall'inizio della terapia , durano alcune ore e rispondono al Paracetamolo o altri FANS. Praticare l'iniezione la sera così con il sonno il paziente avverte meno gli effetti collaterali.</p> <p>** risoluzione rapida</p> <p>*** segnalati alcuni casi di suicidio</p> <p>**** dose dipendenti rispondono alla sospensione della terapia</p>	
Sintomi convulsivi, psicosi, fenomeni autoimmuni, distiroidismi, insufficienza renale acuta, miocardite acuta e infezioni batteriche impongono l'immediata sospensione della terapia.	

g. Recidive dopo trattamento e riattivazione in corso di terapia

Dei pazienti che hanno risposto al trattamento con IFN circa il 10% nel caso di epatite da HBV ed il 50% nel caso di HCV recidivano alla sospensione del trattamento (205).

Per l'epatite B la recidiva può avvenire parecchi mesi dopo l'apparente risposta completa ed è più frequente nella forma anti HBe positiva, mentre per l'epatite C è spesso immediata con ipertransaminasemia superiore a quella segnalata nel periodo preterapia.

Per l'epatite Delta da coinfezione la recidiva ha le caratteristiche dell'epatite B, se si tratta di sovrainfezione ricalca le caratteristiche descritte per l'epatite cronica da HCV.

Le epatiti virali nel tossicodipendente

Una transitoria riattivazione dell'epatite cronica B con aumento delle transaminasi e di anti HBcIgM può comparire entro 2-3 mesi dall'inizio della terapia; è un evento prognosticamente favorevole, espressione dell'eliminazione degli epatociti infettati (205).

Al contrario quando una riattivazione compare in corso terapia per epatite cronica C è sempre un evento sfavorevole legato alla comparsa di Ab anti IFN, a sregolazione dei recettori interferonici o per selezione di ceppi resistenti (188, 205).

h. Segni di resistenza alla terapia

La terapia può suscitare, nel 15% dei trattati, lo sviluppo di Ab anti IFN (188,189), tuttavia, pur se il problema è ancora controverso e di differente entità tra i diversi tipi di IFN, sembra che tali Ab non siano in grado di bloccare l'attività biologica e farmacologica della citochina.

Un problema particolare riguarda pazienti in trattamento per infezione cronica da HCV dove la presenza di Ab anti LKM è indice precoce di resistenza alla terapia con IFN (103).

i. Protocolli IFN negli adulti

Epatite cronica da HBV tipica (HBeAg pos, HBV DNA pos.)

4,5-9 MU tre volte alla settimana per 6 mesi e non oltre i 12 mesi (205, 190, 191)

Risponde circa il 40% degli adulti. La miglior attesa di risposta si ha trattando in fase di immunoeliminazione con transaminasi e flogosi elevate e bassi livelli di viremia. Un'anamnesi di epatite acuta itterica con breve storia di malattia non acquisita per via verticale, negatività ad HIV e l'appartenenza al sesso femminile sono altri elementi prognosticamente favorevoli (192).

Decorso: diminuzione e scomparsa di HBV DNA in 1-3 mesi dall'inizio della terapia, con sieroconversione ad anti HBe seguita da rialzo transitorio delle transaminasi e di HBcIgM che segnalano l'attivazione del sistema immunitario. I pazienti con questo decorso di solito eliminano HBsAg nel giro di qualche anno, non sono più infettivi ed è improbabile un'evoluzione in cirrosi e in epatocarcinoma (193).

La durata dell'infezione può essere il fattore decisivo per la perdita o la persistenza di HBsAg. I soggetti infettati da meno di due anni vanno incontro più facilmente a perdita dell'HBsAg se avviene sieroconversione ad anti HBe. La persistenza di HBsAg sarebbe legata alla possibilità temporale di un'integrazione di HBV nel genoma dell'epatocita prima dell'inizio della terapia (67). Nei non responders un secondo ciclo di terapia a dosaggio più elevato o un diverso tipo di IFN non sembrano aumentare le probabilità di risposta.

Nei pazienti con epatite B cronica evoluta in cirrosi HBeAg pos e HBV DNA pos IFN

potrà essere somministrato a più bassi dosaggi (1-6 MU tre volte alla settimana) in monitoraggio stretto. Se dopo tre mesi non si osserva alcun effetto favorevole la terapia va sospesa. Nei pazienti con infezione da HIV, IFN risulta frequentemente inefficace (194). Il tasso di risposta primaria non supera in genere il 5-10%. La ridotta risposta terapeutica è legata alla viremia elevata, all'alterata produzione di citochine e di IFN alfa acidolabile a cui si associa una disregolazione dei recettori per IFN alfa e una condizione di immunotolleranza nei confronti di HBV. Anche l'associazione con farmaci antiretrovirali capaci di sopprimere in vitro HBV ha dato risultati deludenti. Peraltri dati di uno studio pilota in pazienti trattati per epatite B cronica indicano che gli HIV positivi con CD4+ > 400 cell/mm³ possono rispondere allo stesso modo dei pazienti HIV negativi (134).

Epatite cronica da HBV atipica (HBeAb positiva, HBV DNA positiva e/o HBcIgM positiva)

9-10 MU tre volte alla settimana per almeno 4 mesi (205).

Dosi standard danno risultati insoddisfacenti. Il tasso di recidive è controverso ma più elevato dell'epatite B tipica (53,57,195).

Decorso: in un'epatite antiHBe positiva la perdita di HBeAg non può essere utilizzata per evidenziare il successo del trattamento. Come marcatore affidabile viene utilizzata la viremia che nei casi favorevoli entro 4 mesi dall'inizio della terapia scende fino a scomparire accompagnata da normalizzazione delle transaminasi. Rara è la scomparsa di HBsAg con sieroconversione ad HBsAb in un periodo compreso tra due mesi e due anni dalla sospensione della terapia. Anche per questa forma è fondamentale per un risultato positivo intervenire in uno stato precoce di malattia (195).

Epatite cronica da HDV (HBsAg positiva, anti Delta positiva, IgM anti Delta positiva)

9-10 MU tre volte alla settimana per 6-12 mesi (205,196).

Decorso: l'epatite Delta da sovrainfezione (superati i segni clinico-laboratoristici dell'epatopatia acuta) può essere trattata seguendo il protocollo dell'epatite Delta cronica, in quanto l'evoluzione verso la cronicità è molto frequente. Circa il 50% dei pazienti risponde alla terapia con normalizzazione delle transaminasi in 2-3 mesi e calo o scomparsa dei marcatori di replicazione e possibile sieroconversione ad HBsAb. Circa il 70% dei pazienti che rispondono tuttavia recidivano alla sospensione della terapia.

Durante la terapia la scomparsa dell'IgM anti Delta è segnale di arresto della viremia e sembra essere il momento più attendibile per seguire il miglioramento virologico (197). Nei pazienti che non rispondono valgono le stesse considerazioni dell'epatite B tipica. Nelle recidive, se vi è indicazione clinica possono essere tentati cicli di 6 mesi di terapia intervallati da 6 mesi senza terapia alle dosi terapeutiche standard o altro ciclo a dose piena per 12 mesi.

Epatite cronica da HCV (anti HCV positiva, HCV RNA positiva)

3-6 MU per tre volte alla settimana per 6-12 mesi (205).

Mentre HCV II e HCV III possono essere trattati con probabilità di successo anche con i dosaggi convenzionali, i pazienti con HCV I richiedono dosaggi più elevati e tempi di terapia più prolungati che si realizzano con una dose iniziale di IFN di 6 MU per tre volte la settimana per 4-6 mesi seguita da 3 MU tre volte la settimana per ulteriori 6 mesi. La risposta completa, anche usando schemi posologici più elevati, varia sensibilmente in rapporto al genotipo virale da un 25% dei pazienti con HCV I a un 50% nei pazienti con HCV II fino ad un 70-90% nei pazienti con HCV III (92,198,199). Sul piano pratico se al 3° mese di trattamento le ALT sono ancora elevate si sospende la terapia mentre si continua fino al 6° mese se si sono normalizzate. Al 6° mese in relazione alla tollerabilità del paziente si continua per altri 6 mesi con dosaggi di 3 o 6 MU per 3 volte alla settimana.

Predittivi di risposta a lungo termine sono l'appartenenza al genotipo III, età inferiore a 45 anni, la minor durata della malattia, un quadro istopatologico di modesta gravità con assenza di cirrosi, l'assenza di viremia mantenuta per oltre 6 mesi dalla conclusione della terapia. La bassa viremia pretrattamento associata al genotipo virale, appaiono comunque gli indici predittivi più attendibili di risposta (112).

Decorso: un'adeguata risposta alla terapia delle epatiti croniche da HCV si ha solo con normalizzazione delle transaminasi e scomparsa di HCV RNA sierico. Nelle epatiti C a differenza delle epatiti B la risposta è rapida e il 40-70% dei pazienti trattati normalizza le transaminasi durante il trattamento già nelle prime 12 settimane (188). Parallelamente l'istologia migliora con diminuzione dei punteggi di flogosi e necrosi mentre la fibrosi appare meno suscettibile a modificazione anche se alcuni autori hanno dimostrato nei responders una significativa riduzione dei marker di fibrogenesi (200). La stretta correlazione tra transaminasi e HCV RNA confermerebbe l'ipotesi di un'inibizione diretta da parte di IFN sulla replicazione virale: nei responder infatti HCV RNA scompare prima della normalizzazione delle transaminasi, per poi riapparire precedendo la risalita delle stesse. La scomparsa dell'RNA virale dal siero e dal fegato non rappresenta un parametro attendibile per valutare la risposta alla terapia perché le recidive risultano frequenti e sono legate a lievi mutazioni del virus, alla scarsa sensibilità dei test in presenza di un numero ridotto di particelle virali e alla presenza di HCV in sedi, come le cellule mononucleari del sangue periferico, dove l'azione antivirale di IFN è limitata (201).

Globalmente solo il 25% dei pazienti trattati normalizza persistentemente gli enzimi di funzionalità epatica e può ritenersi guarita da HCV, il 25% recidiva dopo il primo ciclo e il 50% non risponde alla terapia. La risposta transitoria simula quella dei pazienti che hanno risposta positiva ma, alla sospensione della terapia, le transaminasi risalgono e si mantengono elevate. La maggior parte delle recidive si ha entro 6 mesi dalla sospensione della terapia (188).

Anche nella risposta permanente è possibile un rialzo transitorio delle transaminasi post terapia senza che questo implichi recidiva.

Nei pazienti che non rispondono, in casi clinicamente giustificati, è possibile cercare la risposta terapeutica variando il tipo di IFN (205) secondo quanto previsto nel provvedimento pubblicato in G.U. 7.3.1994 (183). Un miglioramento istologico è stato osservato anche in pazienti che non normalizzano le transaminasi (188) e per questi si pone il problema di proporre cicli ripetuti di terapia antivirale che potrebbe rallentare o impedire l'evoluzione in cirrosi (202).

Nelle recidive non esiste un protocollo univoco e il trattamento va personalizzato in relazione alla tollerabilità del paziente e alle aspettative di risposta che intendiamo conseguire. E' possibile ritrattare con lo stesso protocollo posologico passando a IFN diverso o passare a 6 MU x 3 volte alla settimana per 6 mesi (se si erano prima usati 3 MU) continuando poi con la dose minima efficace a mantenere le transaminasi normali. Nei soggetti con infezione da HIV IFN sembra dare risultati più promettenti sull'epatite C di quanto osservato per il trattamento dell'epatite B. I livelli di risposta primaria sono del 40% rispetto ad una risposta del 50% che si osserva negli HIV negativi. Nell'infezione cronica da HCV l'associazione IFN-AZT, contrariamente a quanto si osserva negli HBV positivi, pare in grado di ridurre gli indici di citolisi e l'attività istologica epatica degli HIV positivi.

Epatiti virali a etiologia multipla

Nelle epatiti virali a etiologia multipla (HBV/HCV o HBV/HDV con HCV) si tratta con il protocollo terapeutico cui è sensibile il virus che richiede la posologia di IFN maggiore (HBV o HDV).

Ringraziamenti

Si ringrazia la Professoressa Rossella Coppola dell'Istituto di Igiene dell'Università di Cagliari per la cortese concessione alla riproduzione delle immagini grafiche.

Bibliografia

- 1 Fagan EA, Williams R. Fulminant viral hepatitis. Br Med Bulletin 1990; 46: 462-480.
- 2 Blumberg BS, Alter HJ, Visnich S: A "new" antigen in leukemia sera. JAMA 1965, 191, 541-3.
- 3 McCollum RW: Epidemiological patterns of viral hepatitis. AmJ Med. 1962, 32, 657-9.
- 4 Piazza M, Di Stasio G, De Marco F: Why is serum hepatitis virus absent from faeces? Br Med J 1971, 3, 772.
- 5 Piazza M, Cacciatore L, Molinari V, et al: Hepatitis B non transmissible via fecal-oral route. Lancet 1975, 2, 706.
- 6 Purcell RH, Wong DC, Mortisugu Y, et al.: A microtiter solid-phase radioimmunoassay for hepatitis A antigen and antibody. J Immunol 1976, 116, 349-51.
- 7 Rizzetto M, Canese MG, Arico S: Immunofluorescence detection of a new antigen-antibody system (delta/anti-delta) associated with hepatitis B virus in liver and in serum of HBsAg carriers. Gut 1977, 18, 997-1001.
- 8 Arankalle VA, Ticehurst J, sreenivasan MA et al: Aetiological association of a virus-like particle with enterically transmitted Non-A, Non-B hepatitis. Lancet 1983, 1, 550-4.
- 9 Bradley DW Enterically-transmitted non-A, non-B Hepatitis. Br Med Bulletin 1990; 46: 422-461.
- 10 Reyes GR, Purdy MA, Kim JP et al. Isolation of a cDNA from the virus responsible for enterically transmitted non A, non B hepatitis. Science 1994; 247:1335-1339.
- 11 Choo QL, Kuo J, Weiner AJ et al: Isolation of a c DNA clone derived from a blood-born non-A non-B viral hepatitis genome. Science 1989, 244: 359-361.
- 12 Editoriale: L'epatite virale dal tipo A al tipo F. Lancet (Ed it) 1991; 8: 139-40.
- 13 Piazza M, Da Villa G, Picciotto L, et al: Mass vaccination against hepatitis B in infants in Italy. Lancet 1988, 2, 1132.
- 14 Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana. Serie generale-n. 251 del 25.10.1991: Disposizioni relative all'applicazione della legge 27.5.1991 n. 165.
- 15 Baron S, Tying SK, Fleischmann WR et al: The interferons. Mechanisms of action and clinical applications. JAMA 1991; 266: 1375-83.
- 16 Alexander WJ, Foster JG, Hill SB et al. Changing patterns of groups at high risk for hepatitis B in the United States. MMWR report 1988; 37: 429-437.
- 17 Serpelloni G, Gomma M et al. Bassa prevalenza ed incidenza dell'infezione da HIV nei tossicodipendenti della città di Verona (area ad alta densità di tossicodipendenti ev) dopo 5 anni di intervento preventivo. Atti V Convegno Nazionale AIDS e sindromi correlate Cagliari 1-3 Dicembre 1991.
- 18 Giusti G, Sagnelli E, Gallo C et al. Etiology of chronic hepatitis in the 1979-1989 period. A multicentre study of the Italian Association for the Study of the Liver: in Gentilini P and Dianzani MU Eds. Experimental and clinical Hepatology. Elsevier Science Publisher 1991, 155-156.
- 19 Male A, Rapicetta M, Stroffolini T et al: SEIVA: sistema epidemiologico integrato dell'epatite virale acuta. Rapporto annuale 1990. Rapporti ISTISAN 2, 1992.
- 20 Piazza M. Epatite virale acuta e cronica. VI Edizione. Ghedini Ed Milano 1994.
- 21 AAVV Avvertenze per chi viaggia. The Medical Letter 15 giugno 1994 (anno XXIII) p. 50.
- 22 Balayan MS. Hepatitis E virus infection in Europe: regional situation regarding laboratory diagnosis and epidemiology. Clin Diagn Virology 1993; 1: 1-9.
- 23 Chauhan A, Jameel S, Dilawari GB et al. Hepatitis E virus transmission to a volunteer. Lancet 1993; 341: 149-150.
- 24 Zanetti AR, Dawson GJ and the Study Group of Hepatitis E. Hepatitis type E in Italy: a seroepidemiological survey. J Med Virol 1994; 42: 318-320.

- 25 WHO Global Health Situation and Projectios and Estimates 1992 World Health Organization, Geneva.
- 26 Zuckerman A Viral hepatitis and liver disease. Alan R Liss Inc New York 1988.
- 27 Szmuness W, Harley E, Ikram H et al Sociodemographic aspects of the epidemiology of hepatitis B. In Viral Hepatitis Vyas GN, Cohen SN, Schmid R eds. Franklin Institute press, Philadelphia, 1978 p. 297.
- 28 Stroffolini T, Pasquini P, Mele A. HBsAg carrier amongst pregnant women in Italy: results from the screening during a vaccination compaign against hepatitis B. Public Health 1989; 102: 329-333.
- 29 Ponzetto A, See FF LB, Buskell-Bales Z et al. Hepatitis B markers in United States drug addicts with special emphasis on the delta hepatitis virus. Hepatology 1984; 4: 1111.
- 30 Menicagli U, Barbanera M, Menicagli S. Immunogenicità del vaccino anti epatite B in tossicodipendenti con infezione da virus dell'immunodeficienza umana. Rec Prog Med 1991; 82: 69-71.
- 31 Rizzetto M, Gerin JL, Purcell RH: The hepatitis Delta virus and its infection. New York, Alan R Liss, 1987.
- 32 Stevens CE, Taylor PE, Pindyck J et al. Epidemiologia dell'epatite C. JAMA Ed it 1990, 2, 7,557-563.
- 33 Coppola R. Rizzetto M. La diagnostica e la terapia delle epatiti virali. M.D. 08 Scuola Superiore di Oncologia e Scienze Biomediche. Genova 1993.
- 34 Colombatto P, Olivieri F, Brunetto MR. L'epatite C. Professione Sanità Pubblica e Medicina Pratica. 1994; 1: 20-23.
- 35 Bellentani S, Tiribelli C, Saracco C et al. Fondo Studio Fegato, Trieste-Modena. Abstract of the 28th Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver (EASL). Paris 1-4 September 1993.
- 36 Sirchia G, Bellobuono A, Giovannetti A et al . Antibodies to hepatitis C virus in italian blood donors. Lancet 1989; 2: 727.
- 37 Perini GP, Gomma M, Serpelloni G et al. Relationship between HIV infection and hepatitis virus prevalence in 6300 subyeects with parenteral (Gr 1) and sexual (Gr 2) risk. VIII International Conference on AIDS / III STD World Congress Amsterdam 12-24 July 1992.
- 38 Colombo M, Kuo G, Choo QL, et al: Prevalence of antibodies to hepatitis C virus in Italian patients with hepatocellular carcinoma. Lancet 1989, 2, 1006-8.
- 39 Purcell RH. Does non-A non-B hepatitis cause hepatocellular carcinoma? Cancer Detect Prev. 1989, 14, 203-207.
- 40 Craxi A, Fiorello F, Cottone M. Infezione da HCV e carcinoma del fegato.The Ligand Quarterly 1992; 11: 211-214.
- 41 Thaler MI, Park CK, Lander DW et al. Vertical transmission of the hepatitis Cvirus. Lancet 1991; 338: 17-18.
- 42 Melbye M. et al. Sexual transmission of hepatitis C virus: cohort study (1981-9) among european homosexual men BMJ 1990, 301:210.
- 43 Papaevangelou G. et al. Sexual transmission of HCV. In viral hepatitis and liver diseases. Hollinger F.B. et al. ed. Williams e Wilkins 1991, 420.
- 44 Esteban R. Epidemiology of hepatitis C virus infection. J Hepatol 1993; 17: 67-71
- 45 Alberti A, Chemello L, Bonetti P et al. Tretment with interferon of community-acquired chronic hepatitis and cirrhosis type C. J Hepatol 1993; 17(3) : 123-126.
- 46 Tiollais P, Pourcel C, De Jean A. The hepatitis B virus. Nature 1985; 317: 489-495.
- 47 Dane DS, Cameron CH, Briggs M: Virus-like particles in serum of patients with Australia-Antigen associated hepatitis. Lancet, 1970; 1:695.
- 48 Kekule' AS, Lauer V, Meyer M et al. The pre S2/S region of integrated hepatitis B virus DNA encodes a transcriptional transactivator. Nature 1990; 343: 457-61.

- 49 Siddiqui A. Liver-specific expression of HBV genes. V International Symposium on Viral Hepatitis 30 January-1 February 1992, Madrid, Spain (abstract).
- 50 Feiltenson MA. Hepadnavirus X antigen in chronic liver disease and hepatocellular carcinoma. V International Symposium on Viral Hepatitis 30 January-1 February 1992, Madrid, Spain (abstract).
- 51 Alberti A, Pontisso P, Milanesi G. Methods for the study of pre-S proteins of hepatitis B virus and their antibodies: pathogenetic and clinical implications. *Ric Clin Lab* 1988; 18: 241-258.
- 52 Bottarelli P, Brunetto MR, Minutello MA et al. T lymphocyte response to hepatitis C virus in different clinical courses of infection. *Gastroenterology* 1993; 104: 580, 7.
- 53 Brunetto MR, Olivieri F, De Martini A et al. Treatment with interferon of chronic hepatitis B accompanied B antibodies to hepatitis B e antigen. *Hepatology* 1991; 13: 8-11.
- 54 Brunetto MR, Stamler M, Shodel F et al. Identification of HBV variants with cannot produce pre-core derived HBeAg and may be responsible for severe epatitis. *It J Gastroenterol* 1989; 21: 151-154.
- 55 Brunetto MR, Stemler M, Bonino F, et al: A new hepatitis B strain in patients with severe anti-HBe positive chronic hepatitis B. *J Hepatology* 1990, 10, 258-61.
- 56 Carman WF, Jacyna MR, Hadziyannis S, et al: Mutation preventing formation of hepatitis B e antigen in patients with chronic hepatitis B infection. *Lancet* 1989, 2, 588-590.
- 57 Hadziyannis S, Bramou T, Makris A et al. Interferon alfa-2b treatment of HBeAg negative/serum HBV-DNA positive chronic active hepatitis type B. *J Hepatol*. 1990, 11 (suppl.) S 133.
- 58 Will H. HBcAg and HBeAg expression: how, where, why or why not? *J Hepatol* 1991; 13 (suppl 4): 66-67.
- 59 Brunetto MR, Giarin M, Olivieri F et al. "e" antigen defective hepatitis B virus and course of chronic infection. *J Hepatol* 1991; 13 (suppl 4): 82-86.
- 60 Bianchi L, Gudar F: Immunopathology of hepatitis B. In Popper H, Schaffner F (eds): *Progress in Liver Diseases*, Vol VI. Grune and Stratton, New York 1979, 371-391.
- 61 Thomas HC, Pignatelli M, Goodall A, et al: Immunologic mechanisms of cell lysis in hepatitis B virus infection. In Vyas GN, Dienstag JL et al: *Viral Hepatitis and Liver Diseases*. Grune and Stratton, Orlando 1984, 167-177.
- 62 Nouri-Aria KT, Magrin S, Alexander GJM, et al: Abnormal T-cell activation in chronic hepatitis B viral infection: a consequence of monocyte dysfunction? *Immunology* 1988, 64, 733-738.
- 63 Chemello L, Mandelli M, Bartoletti F et al. Natural Killer Activity in patients with acute viral hepatitis. *Clin Exper Immunol* 1986; 64:59-64.
- 64 Mondelli M, Mieli-Vergani G, Alberti A et al. Specificity of T Lymphocyte cytotoxicity to autologous hepatocytes in chronic HBV infection: evidence that T cells are directed against HBcAg expressed in hepatocytes. *J Immunol* 1982; 129: 2733-2778.
- 65 Pignatelli M, Waters J, Brown D et al. HLA class I antigens am the epatocyte membrane during recovery from acute hepatitis B virus infection and during interferon therapy in chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology* 1986; 6:349-353.
- 66 Chu CM, Liaw YF: Intrahepatic expression of HBcAg in chronic HBV hepatitis:lessons from molecular biology. *Hepatology* 1990, 12, 1443-1445.
- 67 Hoofnagle JH, Shafritz DA, Popper H: Chronic type B hepatitis and the "healthy" HBsAg carrier state. *Hepatology*. 1987, 7, 758-763.
- 68 Realdi G, Alberti A, Rugge M et al: Seroconversion from hepatitis B e antigen to anti-HBe in chronic hepatitis B virus infection. *Gastroenterol* 1980, 79, 195-199.
- 69 Szmuness W, Much MI, Prince AM et al. The role of sexual behaviour in the spread of hepatitis B infection. *Ann Int Med* 1975; 83: 489-495.
- 70 Fattovich G, Brollo L, Alberti A et al . Spontaneous reactivation of hepatitis B virus infection in patients with chronic type B hepatitis. *Liver* 1990; 10: 141.

- 71 Pignatelli M, Waters J, Lever AML et al. Citotoxic T-cell responses to the nucleocapsid proteins of HBV in chronic hepatitis. *J Hepatol* 1987; 4:15-21.
- 72 Desmet VJ: Immunopathology of chronic viral hepatitis. *Hepato-gastroenterol* 1991, 38, 14-21.
- 73 Colombo M. Hepatocellular carcinoma *J Hepatol* 1992; 15: 225.
- 74 Scheur PJ. Classification of chronic viral hepatitis: a need for reassessment. *J Hepatol* 1991; 13: 372-374.
- 75 Popper H. Changing concepts of the evolution of chronic hepatitis and the role of piecemeal necrosis. *Hepatology* 1983; 3: 758-762.
- 76 Brunetto MR, Arrigoni A, Toti M et al. The diagnostic significance of IgM antibody to hepatitis B core antigen revisited. *Ital J Gastroenterol* 1988; 20: 167-170.
- 77 Wang KS, Choo QZ, Weiner A: Structure, sequence and expression of hepatitis delta viral genome. *Nature* 1986, 323: 508-514.
- 78 Diener TO, Prosiner SB: The recognition of subviral pathogens. In: *Subviral pathogens of plants and animals: viroids and prions*. Eds Marmorosch K, McKelvey JJ, Academic Press, Florida, 1985, 3.
- 79 Rizzetto M, Hoyer B, Canese MG, et al: Delta agent: association of delta antigen with hepatitis B surface antigen and RNA in serum of delta-infected chimpanzees. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1980, 77: 6124.
- 80 Hoofnagle JH. L'epatite Delta. *JAMA* Ed it 1989, 1; 4: 323-28.
- 81 Caredda F, Rossi E, D'Arminio Montorte et al: Hepatitis B virus coinfection and superinfection with delta agent: indistinguishable disease with different outcome. *J Infect Dis* 151: 925-928, 1985.
- 82 Fattovich G, Boscaro S, Noventa F, et al: Influence of hepatitis delta infection on progression to cirrhosis in chronic hepatitis type B. *J Infect Dis* 1987, 155, 931-5.
- 83 Centers for Disease Control.. Public Health Service Inter-Agency Guidelines for Screening Donors of Blood, Plasma, Organs, Tissue and Semen for Evidence of Hepatitis B and Hepatitis C. *MMWR* 1991, 40: 1-17.
- 84 Verme G, Brunetto M, Olivieri F et al. Role of hepatitis Delta virus infection in hepatocellular carcinoma. *Dig Dis Sci* 1991; 36: 1134-1136.
- 85 Dimitrakakis M, Waters MJ, Wootten A et al. Detection of IgM antibodies to delta antigen after coinfection and superinfection with the Delta virus. *J Med Virol* 1986; 20: 305-311.
- 86 Aragona M, Magagno S, Caredda F et al. Serological response to the hepatitis D. *Lancet* 1987; 1: 478-480.
- 87 Rizzetto M, Verme G, Recchia S, et al: Chronic hepatitis in carriers of hepatitis B surface antigen with intrahepatic expression of the Delta antigen. An active and progressive disease unresponsive to immunosuppressive treatment. *Ann Int Med* 1983; 98: 437-411.
- 88 Choo QL, Weiner AJ, Oveby LR et al. Hepatitis C virus: The major causative agent of viral non-A, non-B hepatitis. *Br Med Bulletin* 1990; 46: 423-441.
- 89 Dienstag JL. Hepatitis non-A non-B: C at last. *Gastroenterology* 1990; 99: 1177-1180
- 90 Houghton M, Weiner AJ, Han J et al. Molecular Biology of the hepatitis C viruses: implications for diagnosis, development and control of viral disease. *Hepatology* 1991; 14: 381-8.
- 91 Kumar U, Brown J, Monjardino J et al. Sequence variation in the large glycoprotein (E2/NS1) of the hepatitis C virus during chronic infection. *J Infect Dis* 1993; 167(3): 726-730.
- 92 Okamoto H, Sugiyama Y, Okada S et al. Typing hepatitis C virus by polymerase chain reaction with type-specific primers; application to clinical surveys and tracing infections sources. *J Gen Virol* 1992; 73: 673-679.
- 93 Simmonds P, McOmisch F, Rose K et al. Classification and detection of genotypes of HCV. Abstract Workshop paper B23 International Symposium on Viral Hepatitis and Liver Disease. Tokyo, May 1993

- 94 Hayashi N, Higashi H, Kaminaka K et al. Molecular cloning and heterogeneity of the human hepatitis C virus genome. *J Hepatol* 1993; 17 (suppl 3): S94-107.
- 95 Che TA, Beall E, Irvine B et al. At least five related but distinct hepatitis C viral genotypes exist. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the USA* 1992; 89: 7144-7148.
- 96 Transfusion Safety Study Group represented by Mosley JW. Possible HCV re-infection of hemophiliacs with antecedent anti-c 22-3 and anti-c 33c but not anti-c 100-3. Abstracts of the V International Symposium of Viral Hepatitis. Madrid 30 Gennaio-1 Febbraio 1992, 13.
- 97 Gary LD Interferon treatment of chronic hepatitis C. *Am J Med* 1994; 96: 41-46.
- 98 Takahashi M, Yamada G, Miyamoto R et al. Natural course of chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 1993; 88, 2: 240-243.
- 99 Alter HJ, Purcell RH, Shih JW et al. Detection of antibody to hepatitis C virus in prospectively followed transfusion recipients with acute and chronic Non-A, Non-B hepatitis. *New Eng J Med* 1989, 321, 1494-1500.
- 100 Tremolada F, Chiappetta F, Noventa F, et al: Etiology and natural history in of non-A non-B post-transfusion hepatitis in Italy. In Bianchi PA, Conte D, Mondelli M: *Chronic hepatitis*, Masson Italia Ed. Milano, 1984: 29-45.
- 101 Kiyosawa K, Sodeyama T, Tanaka E et al. Interrelationship of blood transfusion, non A-non B hepatitis and hepatocellular carcinoma: analysis by detection of antibody to hepatitis C virus. *Hepatology* 1990; 12: 641-675.
- 102 Schener P, Ashrafzadeh P, Sherlock S. The pathology of hepatitis C. *Hepatology* 1992; 15: 567-71.
- 103 Bianchi FB Autoimmunità e HCV. *Rec Prog Med* 1993, 84 n°11, 774-8.
- 104 Bonino F, Brunetto MR, Baldi M. Hepatitis C serology. *Eur. J. Gastroenterol* 1992; 3: 580-4.
- 105 Weiner AJ, Kuo G, Bradley DW, et al: Hepatitis C viral sequence in the clinical samples from anti-HCV antibody positive and negative individuals with non-A non-B hepatitis. *Lancet* 1990, 335, 1-3.
- 106 Alberti A. Diagnosis of hepatitis C. Facts and perspectives. *J Hepatol* 1991; 12: 279-82.
- 107 Esteban JI, Gonzales A, Hernandez JM et al. Evaluation of antibodies to hepatitis C virus in study of transfusion-associated hepatitis. *N Engl J Med* 1990; 323 (16): 1107-1112.
- 108 Brillanti S, Masci C, Ricci P et al. Significance of IgM antibody to hepatitis C virus in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 1992; 15: 998-1001.
- 109 Kotwal JG. Routine laboratory diagnosis of hepatitis C virus infection. *J Hepatol* 1993; 17: 83-89.
- 110 Nowicki MJ. Selective decline of anti HCV C 100-3 antibodies in the HCV-infected individuals with hemophilia. V International Symposium on viral hepatitis. 30 January- 1 February 1992 Madrid Spain.
- 111 Alberti A et al. Hepatitis C viraemia and disease in symptom-free individuals with anti HCV. *Lancet* 1992, 340:697.
- 112 Abate ML, Manzini P, Negro F et al. Detection of hepatitis C RNA by reverse-transcriptase and polymerase chain reaction: clinical applications of quantitative analysis. *Clin and Diagn Virol* 1994; 1: 289-297.
- 113 Lau JYN, Davis GL, Kniffen J et al. Significance of serum hepatitis C virus RNA levels in chronic hepatitis. *Lancet* 1993; 341: 1501-1502.
- 114 Karayannis P, Marvick DM, Lok ASF et al. Hepatitis B virus DNA in saliva, urina and seminal fluid of carriers of hepatitis B e antigen. *Br Med J* 1985; 290: 1853-1855.
- 115 Botha JF, Ritchie MJJ, Dusheiko GM et al. Hepatitis B virus carrier state in black children in ovamborland: role of perinatal and horizontal transmission. *Lancet* 1984; i 1210-1214.
- 116 Beasley RP, Hwang LY, Lin CC et al. Incidence of hepatitis B virus infection in preschool children in Taiwan. *J Infect Dis* 1983; 117: 213-222.
- 117 Bonino F, Caporaso N, Dentico P et al. Familiar clustering and spreading of hepatitis delta infection. *J Hepatol* 1985; 1: 221-226.

- 118 Alter HJ, Chalmers TC. The HBsAg positive health care workers revisited. *Hepatology* 1981; 1: 467-470.
- 119 Rizzetto M, Hadziyannis S, Hausson BG et al. Hepatitis Delta virus infection in the world; epidemiological patterns and clinical expression. *Gastroenterology* 1992; 5: 18-32.
- 120 Bradley DW. HCV: current status and issues for the future. Abstract of paper. Third International Symposium on HCV, September 16-17, 1991 Strasbourg, 34.
- 121 Diago M, Carbonell P, Zapater R et al. Intra-family transmission of the hepatitis C virus. V International Symposium on viral hepatitis. 30 January- 1 February 1992 Madrid Spain.
- 122 Ikeda T, Lever AML, Thomas HC Evidence for a deficiency of IFN production in patients with chronic HBV infection acquired in adult life. *Hepatology* 1986; 6: 962-965.
- 123 Onji M, Lever AML, Saito I et al. Defective response to interferons in cells transfected with the hepatitis B virus genome. *Hepatology* 1989; 9: 92-96.
- 124 Rizzetto M, Verme G, Recchia S et al. Chronic HBsAg hepatitis with intrahepatic expression of Delta antigen. An active and progressive disease unresponsive to immunosuppressive treatment. *Ann Intern Med* 1989; 98: 437-441.
- 125 Pastore G, Monno L. Epatiti virali in corso di infezione da HIV in Dianzani F, Ippolito G, Moroni M. *Il Libro Italiano dell'AIDS*. McGraw-Hill Ed. Milano, Ottobre 1994.
- 126 Monno L, Angarano G, Lo Caputo S et al. Unfavourable outcome of acute hepatitis B in anti HIV positive drug addicts. In *viral hepatitis and liver disease*. Alan R. Liss Inc. 1988: 205-206.
- 127 Monno L, Angarano G, Santantonio T et al. Lack of HBV and HDV replicative activity in HBsAg positive intravenous drug addicts with immunodeficiency due to HIV. *J Med Virol* 1991; 34:199-205
- 128 Bodsworth N, Nightingale BN. The effect of concurrent HIV infection on chronic hepatitis B: a study of 150 homosexual men. *J Infect Dis* 1989; 160:577-82.
- 129 Lesur G. et. Foie et virus de l'immunodéficience humaine de type 1. *Ann Med Interne* 1991; 142:219-25.
- 130 Weller IV, Cohn D, Sierralta A et al. Clinical, biochemical, serological, histological and ultrastructural features of liver disease in drug abusers. *Gut* 1984; 25: 417-423.
- 131 Castro M, Pereiro C, Pedreira JD et al. Study of the chronic viral in intravenous drug users and its relationship with the human immunodeficiency virus. V International Symposium on viral hepatitis. 30 January- 1 February 1992 Madrid Spain.
- 132 Cargnel A, Gubertini G, Viganò O. HCV e tossicodipendenze. *The Ligand Quarterly* 1992; 11: 183-185.
- 133 Cristina S, Boldorini R, Viganò P et al. Chronic HCV hepatitis in HIV-1 infected patients ultrastructural analysis of liver biopsies. V International Symposium on viral hepatitis. 30 January- 1 February 1992 Madrid Spain.
- 134 Atti Commissione Nazionale AIDS. I semestre 1992. Ministero della Sanità.
- 135 Tor J, Libre JM, Carbonell M et al. Sexual transmission of hepatitis C virus and its relation with hepatitis B virus and HIV. *Br. Med J.*: 1990, 301: 1130-1133.
- 136 Tedder RS, Gilsin RJ, Briggs M et al. Hepatitis C virus: evidence for sexual transmission. *Br Med J* 1991; 302:1299
- 137 Ideo G, Bellati G, Pedraglio E et al. Intrafamilial transmission of hepatitis C virus. *Lancet* i: 1990,353.
- 138 Kiyosawa K, Sodeyama T, Tanaka E et al. Intrafamilial transmission of hepatitis C virus in Japan. *J Med Virol*: 1991,33:114
- 139 Mast EE, Darrow WW, Witte J et al. Hepatitis C virus infection among prostitutes: evidence for sexual transmission and protective efficacy of condoms. Abstract of paper, Third International Symposium on HCV, September 16-17,1991, Strasbourg, E52.
- 140 Perini GP, Gomma M, Accordini A et al. HIV infection and HBV serology: a survey of 1619 patients in: IX International Conference on AIDS / IV STD World Congress. Berlin 6-11 Ju-

Le epatiti virali nel tossicodipendente

- ne 1993.
- 141 Salassa B, Macor A, Zucco E et al. Vaccinazione anti HBV in tossicodipendenti: scelta di un protocollo. *Giornale di Malattie infettive e Parassitarie* 1994; 46 (1): 27-31.
 - 142 Pravost PJ et al. Progress toward life attenuated human hepatitis A vaccine. *Proc Soc Exp Biol Med* 1982, 170:8.
 - 143 Purcell RH. Approaches to immunization against hepatitis A virus in: viral hepatitis and liver disease, Hollinger FB et al ed, Williams e Wikins 1991, 41.
 - 144 Widermann G, Ambrosh F, Kollaritsch H et al. Safety and immunogenicity of on hepatitis A candidate vaccine in healthy adult volunteers. *Vaccine* 1990; 8: 581- 584.
 - 145 Crovari P et al. Passive-active immunoprofilaxis in newborns to HBsAg carrier mothers in Liguria. *Note I Boll Ist Sieroter* 1984, 63:290;
 - 146 Dallamano R. Vaccinare contro l'epatite B: un costo senza ritorno o un buon investimento? in: Ghetti V. La vaccinazione di massa contro l'epatite B in Italia. Ed. Franco Angeli, Milano, 1991, 31-76.
 - 147 Centers for Disease Control. Hepatitis B virus: a comprehensive strategy for eliminating transmission in the United States Through universal childhood vaccination. *MMWR* 22.11.1991
 - 148 AA VV. Vaccino ricombinante contro l'epatite B. *The Medical Letter* 728;1987
 - 149 Hadler SC et al. Long term immuogenecicity and efficacy of hepatitis B vaccine in homosexual men. *N Engl J Med* 1986;315:209-14.
 - 150 Goilav C, Piot P. Vaccination against hepatitis B in homosexual men: a review. *Am J Med* 1989; 87 (suppl 3A): 21 -25..
 - 151 Couronce' AM et al. Long term efficacy of hepatitis B vaccination in healthy adults. In viral hepatitis and liver disease, Zuckermann AJ Alan R Liss 1988, 1002.
 - 152 MMWR. postexposure prophylaxis for hepatitis B. 22.11.1991
 - 153 Hess G, Massing A, Rosso S et al. Sexual transmission of hepatitis viruses. Abstract of paper. The 1990 International Symposium on viral hepatitis and liver disease, April 4-8, 1990, Huston.
 - 154 Hilleman MR. Approaches to the development of a vaccine against hepatitis C. Abstract of paper. Third International Symposium on HCV, September 16-17, 1991, Strasbourg.
 - 155 Piazza M. Periodic gammaglobulin to prevent hepatitis C in at-risk sexual partners. *Lancet* i: 1990, 823.
 - 156 Conrad ME, Lemon SM. Prevention of endemic icteric viral hepatitis by administration of immune serum gamma globulin. *J Infect Dis*:1987,156:56.
 - 157 Knodell RG, Conrad ME, Ginsberg AL et al. Efficacy of prophylactic gamma-globulin in preventing non-A, non-B post transfusion hepatitis *Lancet* i: 1976, 557.
 - 158 Seef LB, Zimmerman HJ, Wright EC et al. A randomized, double-blind, controlled trial of the efficacy of immune serum globulin for the prevention of post-transfusion hepatitis. A veteran Administration cooperative study. *Gastroenterology* 1977, 72:11.
 - 159 Sanchez-Quijano A, Pineda JA, Lissen A et al. Prevention of post-transfusion Non A, non-B hepatitis by non specific immunoglobulin in heart surgery patients. *Lancet* i: 1988,1245.
 - 160 Knodell RG, Conrad ME, Ishak KG. Development of chronic liver disease after acute non-A, non-B post-transfusion hepatitis. Role of gamma-globulin prophylaxis in its prevention. *Gastroenterology*: 1977, 72:902.
 - 161 Rumi MG, Colombo M, Romeo R et al. Suboptimal response to hepatitis B vaccine in drug users. *Arch Intern Med* 1991; 151: 574.
 - 162 Lugoboni F et al. An HBV vaccination program for street injecting drug users: implications for testing an HIV vaccine. VIII International Conference on AIDS, Amsterdam, 1992
 - 163 Alter HJ et al The changing epidemiology of Hepatitis B in the United States: need for alternative vaccination strategies. *JAMA* 1990; 263:1218-22.
 - 164 Pomerantz RJ, Friedman LS. Hepatitis B and human immunodeficiency virus: double trouble.

- Gastroenterology 1991; 101: 862-3.
- 165 Lugoboni F. et al. Successo di una campagna di vaccinazione per l'epatite B in un'ampia coorte di tossicodipendenti del Veneto. Abstract Congresso ANLAIDS, Cagliari, dicembre 1991.
 - 166 Collier AC et al. Antibody to HIV and suboptimal response to hepatitis B vaccination. *Ann Int Med* 1988; 109:101.
 - 167 Buchbinder S et al. Does infection with hepatitis B virus or vaccination with plasma-derived hepatitis B vaccine accelerate progression to AIDS? VI International Conference on AIDS, S.Francisco, 1990.
 - 168 Ronca P et al. Risposta al vaccino "S/preS" di non responder alla vaccinazione tradizionale. Abstracts Congresso ANLAIDS, Cagliari, dicembre 1991.
 - 169 Halsey NA et al. HIV infection and immunization against other agents. *N Engl J Med* 1987; 316:683-5.
 - 170 Jilg W et al. Vaccination against Hepatitis B: comparison of three different vaccination schedules. *J Infect Dis* 1989; 160:766-769.
 - 171 Hollinger FB. Factors influencing the immune response to hepatitis B vaccine, booster dose guidelines and vaccine protocol recommendation. *Am J Med* 1989; 87 (suppl 3A): 36 S.
 - 172 Luo KX, Wang LP, Nie J et al. Is nonresponsiveness to hepatitis B vaccine due to latent hepatitis B virus infection? *J Infect Dis* 1992; 165:777.
 - 173 Alper CA, Kruskal MS, Markus-Bagley D et al. Genetic prediction of non response to hepatitis B vaccine. *N Engl J Med* 1989; 321: 708.
 - 174 Ministero della Sanità: circolare n.16 del 2.4.92. Direzione Generale Servizi di Igiene Pubblica.
 - 175 Bollettino di informazione sui farmaci anno XVI n.4 Ministero della Sanità'.
 - 176 Kokuman S, Fuji A, Yoshioka K et al. A pilot study of recombinant human interleukin 2 for chronic type B hepatitis. *Hepatology* 1988; 8: 487-492.
 - 177 Puoti M, Zonaro A, Ravaggi A. Hepatitis C virus RNA and antibody response in the clinical course of acute hepatitis C virus infection. *Hepatology* 1992; 16(4): 877-881.
 - 178 Revel M. Genetic and functional diversity of interferons in man. in: *Interferon*, 5, p 205, Gresser I ed, Academic Press New York, 1993.
 - 179 Finter NB, Chapman S, Dowd P et al. The use of interferon alpha in virus infections. *Drugs* 1991, 42 (5): 749-765.
 - 180 Bocci V. Interferon, una storia recentissima e antica, fisiopatologia e clinica del sistema IFN. Milano 1993, Antea Edizioni
 - 181 Sen GC, Lengyel P: The interferon system. *J Biol Chem* 1992, 267(8): 5017-5020.
 - 182 Chayama K, Saitoh S, Arase Y et al. Effect of interferon administration on serum hepatitis C virus RNA in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 1991; 13: 1040-1043.
 - 183 Ministero della Sanità. Bollettino di informazione sui Farmaci. I registri ULSS. Anno I numero 1 Agosto 1994. p 6-10.
 - 184 Ohnishi K. Treatment of post-transfusional non-A non-B acute and chronic hepatitis with human fibroblastic B-interferon: a preliminary report. *Am J Gastroenterol* 1989, 84:596.
 - 185 Omata M, Yokosuka O, Takano S et al. Resolution of acute hepatitis C after therapy with natural Beta interferon. *Lancet* 1991; 338: 914-915.
 - 186 Lampertico P, Rumi M, Raffaella R et al. A multicenter randomized controlled trial of recombinant interferon alpha 2b in patients with acute transfusion-associated hepatitis C. *Hepatology* 1994; 19: 19-22.
 - 187 Schvarcz R, Glaumann H, Weiland O et al. Histological outcome in interferon alpha-2b treated patients with chronic post transfusion non-A non-B hepatitis. *Liver* 1991; 11: 30-38
 - 188 Davis GL, Balart LA, Schiff ER et al. Treatment of chronic hepatitis C with recombinant interferon alpha. A multicenter randomized controlled trial. *New Engl J Med* 1989; 321: 1501-1506.
 - 189 Brook MG, McDonald JA, Karayannis P et al. Randomised controlled trial of interferon alpha

Le epatiti virali nel tossicodipendente

- 2 A for the treatment of chronic hepatitis B virus infection : factor that influence response. Gut 1989; 30: 1116-1122.109.
- 190 Hoofnagle JH. Alfa Interferon therapy of chronic hepatitis B. Current status and recommendations. J Hepatol, 1990, 11:S100.
- 191 Rizzetto M, Saracco G. Recent advances in the treatment of chronic B virus hepatitis, Forum Trends Exp Clin Med 1991, 1:47.
- 192 Thomas HC, Karayannis P, Brook G. Treatment of hepatitis B virus infection with interferon: factors predicting response to interferon. J Hepatol 1991; 13: S4-S7.
- 193 Korenman J, Baker B, Waggoner J et al. Long - term remission of chronic hepatitis B after alpha interferon therapy. Ann Inter Med 1991; 114:629-634.
- 194 Mc Donald JA, Caruso L, Karayannis P et al. Diminished responsiveness of male homosexual chronic hepatitis B virus carrier with HTLV III antibodies to recombinant alpha-interferon. Hepatol 1987; 7: 719-723.
- 195 Fattovich G, Farci P, Rugge M et al. A randomized controlled trial of lymphoblastoid interferon in patients with chronic hepatitis B lacking HBeAg. Hepatol. 1992, 15: 584-589.
- 196 Hadziyannis SJ. Use of alfa interferon in the treatment of chronic delta hepatitis. J Hepatol (suppl) 1991, 13:S21.
- 197 Marinucci G et al. Prognostic significance of IgM-HD during interferon therapy in: Hepatitis Delta virus: molecular biology pathogenesis and clinical aspects. Hadziyannis et al. Ed Wiley Liss, 1992 p 311.
- 198 Kano K, Kako M, Okamoto H. HCV genotypes in chronic hepatitis C response to interferon. Lancet 1992; 339:1543.
- 199 Alberti A, Pontisso P, Chemello L. Diagnostica molecolare nelle epatopatie croniche virali. Atti III° Convegno Attualità e prospettive in epatologia Padona 1993 p 16-24.
- 200 Capra F, Casaril M, Gabrielli GB et al: Alfa-interferon in the treatment of chronic viral hepatitis: effects on fibrogenesis serum markers. J Hepatol 1993; 18: 112-118.
- 201 Zignego AL, Monti M, Careccia G et al HCV infection of peripheral and liver mononuclear cells in chronic HCV carriers with or without liver disease. J Hepatol 1993; 17, 1: 1-46.
- 202 Negro F, Baldi M, Mondardini A et al. Continuous vs intermittent administration of alfa interferon in chronic hepatitis C. J Hepatol 1992; 16: S 48.
- 203 Zanetti AR, Tanzi E, Manzillo G et al. Hepatitis B variant in Europe. Lancet 1988; II: 1132, 1133.
- 204 Shindo M, Di Bisceglie AM, Hoofnagle JH. Acute exacerbation of liver disease during interferon Alfa Therapy for chronic hepatitis. Gastroenterology 1992; 102: 10406-8.
- 205 Bonino F. Terapia con interferone dell'epatite cronica virale. Archimedita Ed 1994 p 15-21.
- 206 Howard CT. L'epatite cronica C: il ruolo degli interferoni nell'epatite cronica virale. Gardiner Coldwell Communications Ltd 1994. Ed Italiana. Roche SpA Milano 1994.