

VALUTAZIONE DELLA PERFORMANCE DI UN TEST NAT IN POOL NELLA INDIVIDUAZIONE DELL' INFEZIONE OCCULTA DA HBV

D. De Tomasi¹, O. Consolandi¹, R. Cigolini¹, T. Lucarelli¹, A. Montani¹, G. Piccinelli², I. Riva¹, C. Rossini¹, F. Sparapani¹, C. Bonfanti², M. Marini¹

¹SIMT, AO Spedali Civili di Brescia

²UO Microbiologia, Spedali Civili di Brescia

INTRODUZIONE

L'infezione occulta da virus dell'Epatite B (OBI) è caratterizzata dalla persistenza di genomi virali in individui negativi per HBsAg. Presso il laboratorio NAT del SIMT di Brescia, la rilevazione simultanea di HIV-RNA, HCV-RNA e HBV-DNA sulle donazioni afferenti al DMTE di Brescia (circa 68.000/anno), dal 2001 è stata effettuata in singolo con TMA, Grifols, mentre da febbraio 2014 in pool da 6 campioni con il Cobas s201-MPX v.2 Roche, PCR di tipo multiplex (MPX). Scopo dello studio è verificare l'efficacia del test NAT Roche qualitativo in pool sull'individuazione delle OBI.

METODI

Da febbraio 2014 al 31.07.2015, presso il Centro Lavorazione Qualificazione Biologica e Validazione (CLQV) del SIMT di Brescia, sono state analizzate 95.704 unità di sangue e/o emocomponenti per la ricerca sierologica di epatite B, C, HIV e Lue con lo strumento Architect Abbott e per la rilevazione HIV-RNA, HCV-RNA e HBV-DNA con il sistema Cobas s201-MPXv2 Roche. In caso di pool reattivo al test NAT si procede, per identificare i singoli campioni reattivi e confermarne la positività, all'apertura del pool, come indicato dalla ditta Roche ed alla ripetizione del test in singolo dei campioni stessi, come da normativa vigente. Individuato e confermato il campione HBV+ al test NAT in singolo viene eseguita la determinazione di HBcAb, HBsAb, HBeAb. In caso di positività il campione viene inviato al laboratorio di Microbiologia degli Spedali Civili di Brescia per la viremia e la conferma dei marcatori per epatite B.

RISULTATI

Di 95.704 unità esaminate, sette pool sono risultati reattivi per HBV DNA. Con apertura dei pool sono stati identificati e confermati 2/7 campioni HBV DNA+ mentre con anche la ripetizione del test NAT in singolo sono stati identificati 4/7 campioni HBV DNA+. I campioni di uno dei pool reattivi sono risultati negativi per entrambe le ripetizioni NAT in singolo: perciò si è eseguita la determinazione di tutti i marker per epatite B. Un solo donatore è risultato positivo per HBcAb e HBsAb ed è stato richiamato entro 7 giorni per un secondo prelievo: il test NAT effettuato in singolo è risultato HBV DNA+. Le sette unità NAT HBV+ avevano HBsAg negativo, HBcAb positivo e ALT nella norma, suggestive per OBI. Di queste, 1 era HBeAb+ e 3 HBsAb+. La UO Microbiologia ha effettuato la determinazione quantitativa di HBV DNA, che è risultata <13 copie/ml per tutti i campioni, ed ha riconfermato il pattern sierologico dei 7 donatori. Tutti erano donatori periodici di età 42-65 anni.

CONCLUSIONI

I risultati ottenuti hanno confermato come il test NAT sia fondamentale per rilevare i casi di infezione HBV occulta che, per il peculiare profilo sierologico, non potrebbero altrimenti essere identificati. Effettuando il test NAT in pool per HBV DNA presso il laboratorio NAT di Brescia si è evidenziata la necessità, in caso di pool reattivo, di analizzare singolarmente ed in doppio i campioni, senza limitarsi al solo processo di risoluzione del pool per evitare l'utilizzo di sangue e/o emocomponenti potenzialmente infetti/infettanti. Inoltre, si è evidenziata l'utilità, in caso di pool reattivo per HBV DNA, della ricerca dell'anti-HBc: in un caso, infatti, senza l'esecuzione di tale test, non si sarebbe né identificata l'unità né confermata la positività. Infine, considerato l'andamento fluttuante dell'HBV DNA plasmatico nelle OBI, si sottolinea il vantaggio di effettuare test NAT e sierologia sulle donazioni nello stesso CLQV e di disporre nello stesso ospedale dei test per confermare l'infezione occulta.