



The need for speed: a Virus BK case report

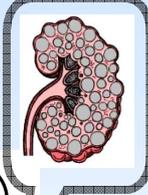
S. D'Arcangelo, L. Collini, P. Lanzafame

U.O. Microbiologia e virologia, Ospedale Santa Chiara, Largo Medaglie d'oro 9, 38122 Trento



Felice è un ragazzo che vive in un paesino di montagna della provincia di Trento. Felice è nato con il rene policistico (ADPKD), una delle malattie genetiche più comuni con un'incidenza di 1 su 1000 e principale causa genetica di insufficienza renale dell'adulto.

Entrambi i reni di Felice erano pieni di cisti, che durante la sua vita sono aumentate di numero e dimensioni, fino a causare la perdita totale di funzionalità renale...



...per anni il tempo di Felice è stato scandito dalle sedute di dialisi: tre a settimana, quattro ore alla volta... Lavorare normalmente era impossibile, ed ogni altra attività pareva inconciliabile con quella che era ormai diventata la sua vita.



Finché una domenica d'inverno il telefono squillò: "C'è un rene per lei, signor Felice".

Mentre l'elicottero trasportava l'organo al centro trapianti di Innsbruck, a Felice non rimaneva molto tempo per pensare alla nuova vita che lo aspettava.



In poche ore l'ambulanza era già lì a prelevare: subito in ospedale per i controlli approfonditi, e poi alla volta di Innsbruck, quella città dove non era mai stato, ma che da anni sognava.

La paura era tanta, ma trovò da subito persone affabili che lo fecero sentire a suo agio.



Felice ha subito il trapianto di rene: a questo punto inizia la terapia immunosoppressiva che prevenga il rigetto.

I farmaci che il ragazzo deve prendere sono:

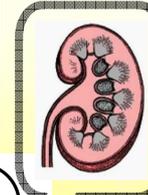
- STEROIDI per la loro potente attività antinfiammatoria;
- INIBITORI DELLA CALCINEURINA (CICLOSPORINA o TACROLIMUS) come modulatori della risposta immunitaria;
- MOFETIL MICOFENOLATO come soppressore della proliferazione linfocitaria.



L'uso di immunosoppressori causa una riduzione dell'attività dei linfociti T: ciò rappresenta terreno fertile per la riattivazione di infezioni virali precedentemente contratte ma rimaste latenti.

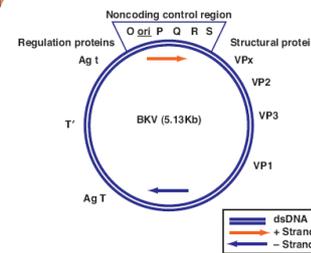
Un esempio importante di questo meccanismo è la riattivazione dell'infezione da BK virus.

Il rischio che Felice corre è di incorrere nella nefropatia da VBK



Il BK virus fa parte della famiglia Papovaviridae e del genere Polyomavirus; vi si distinguono 4 gruppi sierologici. L'infezione primaria avviene nel 90% dei casi entro i primi 4 anni d'età, e il virus rimane latente a livello dell'epitelio renale e delle cellule linfoidi.

BK virus entra nell'organismo a livello del tratto respiratorio; dopo una prima viremia sussanguente all'infezione primaria il virus diviene latente. Quando sopraggiunge immunodeficienza (da farmaci o acquisita) la replicazione del virus può riprendere nei siti dove alberga, ovvero cellule linfoidi e rene: a questo punto come primo sintomo si manifesta una VIRURIA



Il genoma del virus BK (ds-DNA) è lungo 5130 bp e codifica per 6 proteine virali:

- 2 proteine precoci non strutturali, antigene t e antigene T (determinano l'innesco del processo di latenza)
- Agnoproteina VPx che controlla la diffusione del BK virus
- 3 proteine tardive strutturali, VP1, VP2, VP3. VP1 si lega al recettore della cellula ospite e stimola l'endocitosi del VBK

BKV DNA. From "Monitoring of BK Viral Load in Renal Allograft Recipients by Real-Time PCR Assays." Charles J et al 2010 Microbiology and Infectious Disease.

Con la presenza di cellule di sfaldamento e di DNA virale a livello uretrale diviene urgente il monitoraggio del viral load nelle urine, che se supera 10⁸ copie/ml può sfociare in VIREMIA, principale fattore di rischio per lo sviluppo della nefropatia da VBK e di conseguenza di rigetto



Cosa si può fare per aiutare Felice nella prevenzione della nefropatia da BK virus?

Felice abita in provincia di Trento. Viene quindi seguito dall'ambulatorio trapianto renale dell'ospedale Santa Chiara. Con molta cura il personale dell'ambulatorio si preoccupa di dirigere e comunicare ai pazienti le date dei prelievi.

L'analisi molecolare viene svolta nel laboratorio dell'U.O. Microbiologia e virologia dello stesso ospedale: qui si effettua la real time-PCR sia su campioni di urine che di plasma.

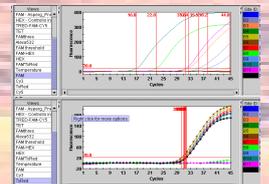
La PCR è uno strumento fondamentale per il monitoraggio dei pazienti trapiantati che quantifica in tempo reale la presenza di DNA virale nelle urine e nel plasma del paziente; il paziente viene controllato per cinque anni dopo il trapianto; campioni di urine vengono analizzati ogni 3 mesi nel primo anno post-trapianto, ogni 6 mesi nel secondo anno, e a cadenza annuale fino al quinto anno.

Se la viruria risulta positiva la frequenza dei controlli aumenta; quando la viruria supera le 10⁸ copie/ml si ricorre alla misurazione della viremia.

ESTRAZIONE DNA virale: NucliSens® easyMAG™ (bioMérieux) estrattore automatico, estrae acido nucleico mediante particelle di silice magnetica (NucliSens® Magnetic Silica)

AMPLIFICAZIONE: 12.5 ul di estratto + 12.5 ul di Master Mix SmartBKV inseriti in cuvette SmartCycler® Tube 25 ul su cui viene effettuata una real-time PCR su SmartCyclerII Euroclone; assieme ai campioni vengono fatti correre un controllo positivo alto e uno basso a concentrazione nota: il numero di copie di BKV nei campioni viene calcolato dal software mediante la curva standard calibrata sui controlli positivi. La regione target è la VP1

Il range di rilevamento è compreso tra 300-10⁸ copie/ml



Felice a 3 mesi dal trapianto ha sviluppato viruria; a 6 mesi ha ripetuto il controllo, e poiché la viruria ha superato 10⁸ copie/ml, è stata valutata anche la viremia, risultata positiva (10⁶ copie/ml). La terapia con immunosoppressori è stata aggiustata tempestivamente, e al controllo successivo l'uomo è risultato negativo sia per viruria che per viremia. Felice non ha sviluppato nefropatia, come nessuno degli altri pazienti seguiti dall'ambulatorio trapianto renale di Trento, la sua storia sottolinea il fondamentale ruolo del laboratorio nella diagnosi: riconoscere precocemente la tipologia di infezione, l'agente eziologico, trattarla adeguatamente ed evitare a pazienti come Felice di incorrere in nefropatia da VBK rappresenta l'obiettivo primario dei servizi di Microbiologia..