

L'OPINIONE

a cura di **EUGENIO A. DEBBIA**

Penso che sia esperienza comune quella di assistere, durante un Convegno Scientifico, a comunicazioni inerenti la Microbiologia Clinica da parte di relatori specialisti di altra materia. Ancor più grave rimane il fatto che molti laboratori di Analisi Cliniche, che includono un settore di Diagnostica Microbiologica, siano sotto la diretta responsabilità di uno specialista di altra disciplina. Dal certo punto di vista anche il possesso della sola Specializzazione in Microbiologia non è sufficiente per gestire il laboratorio se non vi è stato un percorso formativo adeguato e documentato. In varie occasioni, al contrario, molti hanno potuto osservare che ad un Microbiologo veniva negato il diritto di dirigere un laboratorio di Analisi Cliniche, indipendentemente dal fatto che vi fosse una parte destinata alla Microbiologia, dai titoli di studio adeguati e dal fatto che la normativa vigente lo preveda. Io credo che alla base di tutto vi siano alcune motivazioni sulle quali vale la pena riflettere anche se brevemente.

Essere un Microbiologo non è facile, non lo è mai stato e sarà sempre più difficile. Non è facile perché, come nel caso del batteriologo, questo specialista non dosa enzimi o quantità di sostanze presenti in un campione di materiale patologico, ma identifica degli esseri viventi che, come tali, sono in continua evoluzione e diversi tra le diverse specie. Anche nell'ambito di una specie uno stesso germe presenta una quantità enorme di fenotipi, in particolare *in vivo*, che dipendono da situazioni ambientali o fisiologiche diverse (aerobiosi, anaerobiosi, adeso, planctonico, internalizzato nelle cellule eucariotiche, in forma vitale ma non coltivabile, ecc.) ove l'attività di un antibiotico, ad esempio, ne può essere fortemente influenzata. Tali aspetti oggi sono noti ma probabilmente molti altri rimangono da scoprire. Alla luce di queste considerazioni è chiaro come sia già difficile per un Microbiologo interpretare un germe isolato da materiale patologico e, chiaramente ancor di più dovrebbe esserlo per un Clinico che ovviamente si occupa di altre cose. Eppure noi confidiamo e demandiamo al Clinico questa funzione. Infatti noi gli forniamo il nome di un microrganismo talvolta incompleto e una serie di dati sulla sensibilità agli antibiotici che si limitano a simboli come S, I o R. Questo lavoro che ormai sanno fare anche le macchine, anzi se sono collegate a sistemi così detti "esperti" possono aggiungere qualcosa di più di un Microbiologo di limitata esperienza.

Lasciando l'interpretazione dei dati al Clinico e in questo caso dando per scontato che il Clinico lo sappia

fare molto bene neghiamo la nostra professionalità. La mia, anche se non ampia esperienza mi dice che invece il Clinico apprezza moltissimo tutte le informazioni che può scambiare con il Microbiologo. Anzi nelle situazioni ove si realizza l'abitudine ad un dialogo il microbiologo diventa un consulente fondamentale non solo, per impostare una corretta terapia antibiotica, ma anche per interpretare il tipo di infezione e tutti gli aspetti che possono causare fenomeni di ricorrenza o la mancata eradicazione di un germe nonostante sia stato trattato con un antibiotico che il dato di laboratorio indicava come sensibile.

In varie occasioni, anche attraverso recenti pubblicazioni, abbiamo suggerito di manifestare la nostra professionalità. Faccio un esempio banale. Se necessito di una radiografia, il radiologo dopo aver osservato la lastra stila un referto, indipendentemente dal fatto che il clinico legga o meno tale responso e preferisca interpretare la radiografia sulla base della propria esperienza. La professionalità del radiologo è in questo caso manifesta e nessuno tenta di metterla in discussione. Seguiamo tale esempio, diamo un referto più informativo. Sarà sicuramente il Clinico ad interpellarci sul significato del nostro referto e sarà una buona occasione per iniziare un dialogo.

Altro aspetto importante riguarda non solo la Nostra Associazione ma tutta la comunità dei Microbiologi Italiani che dovrebbe intervenire con forza ogni volta che un esperto di materie diverse dal Microbiologo, anche se dotato di una specializzazione, ma privo di un appropriato e documentato percorso scientifico, assume responsabilità in laboratori di Microbiologia. La Nostra e le altre Associazioni dovrebbero inoltre sostenere il Microbiologo qualora ne venga negato il diritto di essere responsabile di un laboratorio di Analisi Cliniche.

Vorrei infine ricordare, a nome di tutto il Comitato di Redazione di Microbiologia Medica, che questa rubrica è stata da noi pensata come uno spazio destinato al colloquio con e tra i lettori della Rivista, sia per esprimere pareri diversi da questo o da quelli già editi, sia per manifestare il proprio punto di vista sulle questioni che riguardano la nostra professione. Per rendere questo intendimento ancora più esplicito e nella speranza di convincere i lettori a partecipare abbiamo deciso di cambiare nome a "l'Opinione" che dal prossimo numero si chiamerà "il Forum di Microbiologia Medica".

RASSEGNA *Bibliografica*

INFEZIONI MATERNO FETALI E NEONATALI

a cura di **GIGLIOLA FLAMMINIO** e **LIDIA RICCI**

Paisley JE, Hinckley AF, O'Leary DR, Kramer WC, Panciotti RS, Campbell GL, Hayes EB. West Nile virus

infection among pregnant women in a northern Colorado community, 2003 to 2004. *Pediatrics*. 2006 Mar; 117(3): 814-20.

Il West Nile virus (WNV) è stato identificato a New York nel 1999 e si è diffuso attraverso il Nord America diventando di interesse per la sanità pubblica.

Nel 2002 è stato riportato il primo caso di infezione

intrauterina da WNV di un bambino con gravi alterazioni cerebrali. Per determinare la frequenza dell'infezione da WNV durante la gravidanza sono stati testati campioni di sangue del cordone alla ricerca di anticorpi specifici verso il virus all'interno di una comunità endemica.

566 donne gravide sono state esaminate fra il 2003 ed il 2004 nel Colorado e in ben 549 è stato possibile prelevare sangue del cordone. È stato effettuato uno screening verso gli anticorpi IgG ed IgM del WNV mediante metodica immunoenzimatica. Il 4% dei campioni è risultato positivo agli anticorpi IgG, nessun campione di sangue cordonale presentava positività verso gli anticorpi di tipo IgM.

Tra i neonati di madri sieropositive e sieronegative non si erano evidenziati differenze nei parametri di crescita del feto durante la gestazione.

Si può quindi concludere che l'infezione intrauterina da WNV sembra essere rara, sebbene ulteriori accertamenti siano in corso.

O'Leary DR, Kuhn S, Kniss KL, Hinckley AF, Rasmussen SA, Pape WJ, Kightlinger LK, Beecham BD, Miller TK, Neitzel DF, Michaels SR, Campbell GL, Panciotti RS, Hayes EB. Birth outcomes following West Nile Virus infection of pregnant women in the United States: 2003-2004. *Pediatrics*, 2006 Mar; 117(3): e537-45.

L'infezione congenita da virus West Nile (WNV) è stata descritta, per la prima volta, nel 2002. In questo lavoro sono state seguite donne che, durante la gravidanza, avevano denunciato l'infezione da WNV al Center for Disease Control and Prevention negli anni 2003-2004. Una sola delle infezioni era stata diagnosticata solo dopo la nascita del bambino.

Per la ricerca del virus venivano testati sia con test immunoenzimatici per gli anticorpi che con metodiche molecolari di amplificazione genica i sieri materni, la placenta, il tessuto del cordone ombelicale ed il sangue cordonale. I neonati venivano seguiti e monitorati fino al primo anno di vita. In totale, in 16 stati americani, venivano seguite 77 donne gravide. Di queste 71 partorirono 72 neonati, 4 abortirono spontaneamente e 2 interruppero la gravidanza.

Dei 72 neonati 67 erano nati a termine, 4 erano prematuri e di 1 non era possibile datare il concepimento. Soltanto su 55 neonati è stato possibile il prelievo del sangue del cordone. 54 neonati presentavano anticorpi di tipo IgM negativi verso il WNV. Solo 1 aveva anticorpi specifici di tipo IgM nel sangue cordonale, dato non riscontrabile nel siero a livello periferico anche dopo un mese dalla nascita. Un neonato che non presentava IgM positive a livello cordonale, ma la cui madre aveva manifestato l'infezione 6 giorni prima del parto, sviluppava la meningite da WNV dopo solo 10 giorni di vita.

Un altro neonato, la cui madre aveva contratto l'infezione da WNV al parto, era nato con un rash cutaneo, la coartazione dell'aorta ed a 1 mese di vita nel siero presentava anticorpi di tipo IgM verso il WNV.

Un quarto neonato, la cui madre si era infettata 3 mesi prima del parto ma la diagnosi era stata tardiva, presentava un'encefalite da WNV che ne causava la morte entro il diciassettesimo giorno di vita.

Le malformazioni maggiormente presenti alla nascita erano: coartazione aortica, alterazioni del palato, sindrome di Down, microencefalite e iposviluppo.

Valutando tutti i dati dello studio dei 72 neonati solo 9 hanno presentato evidenza di infezione congenita da WNV. Sicuramente la sensibilità e la specificità delle IgM a livello

del sangue del cordone ombelicale meritano ulteriori studi ed accertamenti in modo da evidenziare la correlazione fra presenza e/o assenza degli anticorpi specifici e sviluppo dell'infezione.

Questo lavoro ha anche evidenziato come la negatività degli anticorpi di tipo IgM nel siero non escluda la possibile infezione.

Yinon Y, Yagel S, Tepperberg-Dikawa M, Feldman B, Schiff E, Lipitz S. Prenatal diagnosis and outcome of congenital cytomegalovirus infection in twin pregnancies. *BJOG*. 2006 Mar; 113(3): 295-300.

Il lavoro segue fino al parto 20 donne con gravidanza gemellare con evidenza di infezione primaria o reinfezione da Citomegalovirus (CMV). 17 donne presentavano un'infezione primaria mentre 3 avevano reinfezioni ricorrenti.

La diagnosi prenatale veniva eseguita con l'amniocentesi ad entrambi i sacchi alla ventesima settimana di gestazione. L'isolamento del CMV avveniva su colture di fibroblasti, con PCR e con CMV DNA.

Dopo la nascita si cercava il virus sulle urine e nella saliva dei neonati. La presenza del CMV nel liquido amniotico veniva definita infezione intrauterina, mentre l'isolamento del virus sui liquidi organici dopo la nascita infezione congenita.

Solo 1 donna delle 20 non effettuava l'amniocentesi. In 14 donne, in nessuno dei 28 feti, vi era riscontro di trasmissione verticale di CMV e nessuno dei neonati presentava sintomi di infezione congenita.

In 5 donne era stata riscontrata un'infezione intrauterina con una sierologia materna virale positiva solo in 1 donna. In 3 donne il CMV era stato isolato solo nel liquido amniotico di un sacco. Alla nascita, però, entrambi i neonati presentavano l'infezione congenita.

In questo studio emerge che la possibilità di infezione da CMV intrauterina o congenita in donne con infezione primaria o reinfezione sia intorno al 30%. Il ruolo della placenta, nel caso di una gravidanza gemellare, non è ben chiaro e non sembra escludere l'eventuale trasmissione dell'infezione da un feto all'altro.

Levy I, Shalit I, Birk E, Sirata L, Ashkenazi S, German B, Linder N. Candida endocarditis in neonates: report of five cases and review of the literature. *Mycoses*. 2006 Jan; 49(1): 43-8.

Il seguente studio ha preso in esame gli aspetti clinici e diagnostici che caratterizzano le endocarditi da Candida spp. nei neonati.

Frequentemente le endocarditi da lieviti del genere Candida rappresentano una complicanza delle infezioni invasive neonatali. Gli autori hanno analizzato 56 casi verificatisi in un'Unità di Terapia Intensiva Israeliana nel periodo 1995-2000. Nessuno dei pazienti presentava infezioni congenite e nessuno aveva subito cateterizzazione venosa fino al momento della diagnosi di endocardite. Tra i 56 pazienti, cinque svilupparono un micetoma a livello della rima atriale. Si registrarono due decessi, uno dei quali conseguente a stato di sepsi polimicrobica ed enterocolite necrotizzante. È stata eseguita anche una revisione della letteratura, a partire dal 1980, dalla quale sono emersi altri 25 casi di endocardite il cui agente eziologico era una Candida.

Tra i pazienti esaminati, 10 avevano subito trattamento chirurgico e antimicotico, la sopravvivenza fu del 60%. Altri 20 furono sottoposti al solo trattamento farmacologico con

antimicotici, che consentì una sopravvivenza pari al 65%. I due percorsi, pertanto, hanno mostrato risultati simili.

Manzoni P, Maestri A, Leonessa M, Mostert M, Farina D, Gomirato G. Fungal and bacterial sepsis and threshold ROP in preterm very low birth weight neonates. *J Perinatol.* 2006 Jan 1; 26(1): 23-30.

Questo studio di tipo retrospettivo è stato eseguito su un gruppo di neonati prematuri per valutare se ci fosse una correlazione fra sepsi fungine o batteriche e presenza di retinopatia. Sono stati analizzati tutti i neonati ricoverati in un'Unità di Terapia Intensiva Neonatale nel periodo 1997-2001. Tra i neonati arruolati nello studio (n=301), la retinopatia (ROP) veniva riscontrata nel 31,9% dei soggetti, le infezioni fungine nell'11,6% e la sepsi batterica nel 40,5%. I neonati con ROP erano tutti di basso peso, con valore <1000gr o compreso fra 1000 -1500 gr. L'età gestazionale non aveva nessuna correlazione con lo sviluppo della retinopatia e l'unico dato interessante emerso era invece l'esistenza di una correlazione tra le manifestazioni di sepsi fungina e di retinopatia nei neonati di peso inferiore a 1000 grammi.

Sarkar S, Bhagat I, De Cristofaro JD, Wiswell TE, Spitzer AR. A study of the role of multiple site blood cultures in the evaluation of neonatal sepsis. *J Perinatol* 2006 Jan 1; 26(1): 18-22.

Obiettivo di questo studio è stato quello di valutare se un prelievo di sangue da un singolo sito fosse sufficiente a documentare la sepsi nei neonati. Lo studio, di tipo prospettico, è stato condotto su 216 neonati, dai quali sono state prelevate 269 paia di flaconi di emocolture. Ogni coppia era ottenuta mediante prelievi effettuati in siti diversi e ad intervalli di 15-30 minuti, mentre in ogni campione il sangue iniettato era > 1 ml. Dei prelievi 186 erano quelli eseguiti su neonati con sospetto di sepsi precoce, 43 su neonati con sospetto di sepsi tardiva. Dallo studio si evince che:

1. 196 soggetti avevano una coltura negativa
2. 20 neonati (9,2%) presentavano uno stato di sepsi all'età media di 19 giorni.
3. Tra i 20 casi accertati ve n'era uno solo di sepsi precoce, causata da *Listeria monocytogenes*, mentre tutti gli altri erano casi di sepsi tardiva. In 7 casi s'isolava *S. epidermidis*, in tre MRSA, in 2 MRSA e *C. albicans*. La sola *C. albicans* s'isolava in due casi, *Streptococco* di gruppo B in due casi, *Klebsiella pneumoniae* in due, *E. faecalis* in un solo caso ed infine in un neonato s'isolavano contemporaneamente *E. coli* e *Serratia marcescens*.
4. Dai due prelievi s'isolava lo stesso stirpe batterico e con lo stesso pattern di sensibilità.

Dai risultati emerge che un solo prelievo può essere sufficiente per determinare l'agente eziologico causa di sepsi nei neonati.

Chang K, Cheng VY, Kwong NS. Neonatal haemorrhagic conjunctivitis: a specific sign of chlamydial infection. *Hong Kong Med J.* 2006 Feb; 12(1): 27-32.

Nei neonati la congiuntivite emorragica rappresenta un segno molto specifico per l'infezione da *Chlamydia trachomatis*. In questo studio sono stati esaminati 90 neonati, nel periodo di tempo compreso fra il 1996 ed il 2001, presso l'ospedale Tuen Mun di Hong Kong. Dall'indagine colturale del prelievo, eseguito con *screeping* congiuntivale o con tampone, sono stati ottenuti i seguenti dati:

1. 19 soggetti (21%) erano infetti da *C. trachomatis*.
2. 32 (36%) erano infetti da *S. aureus*
3. In 1 neonato s'isolava *Neisseria gonorrhoeae*.
4. Dall'anamnesi delle madri dei neonati in cui si riscontrava l'infezione da *C. trachomatis* non risultava nessun precedente riferibile ad infezione sessualmente trasmissibile da *Clamidia*.
5. Basso peso, età gestazionale, e sesso non sembravano correlati con la congiuntivite emorragica. In tutti i casi invece l'isolamento di *Chlamydia trachomatis* era associato ad emorragia oculare, che risultava pertanto un segno con predittività positiva del 100% per questo tipo d'infezione.

Xiong X, Buekens P, Fraser WD, Beck J, Offenbacher S. Periodontal disease and adverse pregnancy outcomes: a systematic review. *BJOG.* 2006 Feb; 113(2): 135-43.

Molto interessante questa revisione sistematica eseguita su studi di correlazione fra l'infezione peridontale e le complicanze della gravidanza. Per la ricerca degli studi sono stati utilizzati MEDLINE, EMBASE, CINAHL. Sono stati eliminati dalla revisione gli studi in cui non era chiara la descrizione dell'obiettivo. Sono stati inclusi nello studio 25 lavori tra i quali 13 di tipo caso-controllo, 9 studi di corte e tre studi controllati. Tra gli studi esaminati, 18 suggeriscono un'associazione fra infezione peridontale e rischio di complicanze della gravidanza. In sette non si riscontra una correlazione statisticamente significativa. Da tre studi emerge che una buona profilassi ed un buon trattamento peridontale possono ridurre del 57% la nascita di neonati di basso peso e del 50% il parto pretermine. In conclusione dalla revisione si evince che l'infezione peridontale può essere associata con incremento di complicità in fase di gravidanza.

Gordon A, Isaacs D. Late onset neonatal Gram-negative bacillary infection in Australia and New Zealand: 1992-2002. *Pediatr Infect Dis J* 2006 Jan; 25(1): 25-9.

Gli autori hanno eseguito uno studio di sorveglianza delle infezioni in 20 Unità Neonatali Australiane e della Nuova Zelanda. Lo studio di tipo prospettico-longitudinale ha evidenziato i seguenti aspetti:

1. 702/3113 erano i casi di sepsi tardiva riscontrati ed in 681 neonati l'agente eziologico era un Gram negativo (22% dei casi)
2. Il tasso di mortalità era pari al 20,8 % e le cause principali erano il parto prematuro, nel 25% dei casi, il basso peso, nel 24,2% e le infezioni, nel 12,7% dei casi osservati.
3. Le infezioni da *Pseudomonas aeruginosa* determinavano una mortalità pari al 52,3% dei casi, mentre gli altri batteri Gram negativi determinavano mortalità nel 13,7-23,8% dei casi.
4. L'incidenza delle infezioni era pari a 1,14/1000 nati e la mortalità pari a 0,2/1000 nati.

Meirowitz NB, Fleischer A, Powers M, Hippolyte F. Diagnosis of placental abscess in association with recurrent maternal bacteremia in a twin pregnancy. *Obstet Gynecol.* 2006 Feb; 107(2 Pt 2): 463-6.

In questo studio è stato illustrato un raro caso di ascesso placentare riscontrato in un soggetto in stato di gravidanza gemellare. La paziente presentava febbre ricorrente alla 21-ima settimana di gestazione. La batteriemia persistente induceva ad indagini strumentali e microbiologiche.

Attraverso l'ultrasonografia si riscontrava un focolaio infettivo a livello della placenta e dalla coltura batteriologica si isolava *Serratia marcescens*. La paziente aveva manifestato iperemesi gravidica nel primo trimestre di gravidanza ed era stata sottoposta al posizionamento di un catetere vascolare a cui era attribuibile la fonte dell'infezione.

Un trattamento antibiotico prolungato non consentiva la guarigione della paziente. Un'indagine colturale, eseguita sul liquido amniotico di entrambe le sacche, non consentiva alcun isolamento batterico e quattro settimane dopo si registrava il decesso della paziente e di un neonato.

Questo caso clinico induce ad una riflessione sul riscontro di coltura negativa del liquido amniotico che, di fatto, non sembra utile per individuare la presenza di ascessi placentari.

Van Stuijvenberg M, Spanjaard L, Bergman KA. Neonatal infection with *Listeria monocytogenes*: rare, but serious. *Ned Tijdschr Geneesk*. 2006 Jan 14; 150(2): 105-7.

Gli autori descrivono tre casi d'infezione invasiva da *Listeria monocytogenes*, osservati nel periodo di studio 1993-2003. Tutti i neonati erano stati sottoposti a cure intensive, ventilazione assistita, terapia antibiotica. Una delle neonate riuscì a sopravvivere senza sequele, mentre gli altri due neonati morirono nel periodo neonatale.

In uno di questi due casi si riuscì a stabilire che la causa era legata al consumo di latte non pastorizzato da parte della madre. Questa aveva manifestato uno stato febbrile prima del parto. L'analisi dei casi indica che l'alimentazione con cibi contaminati è la principale fonte d'infezione. Nonostante l'incidenza dei casi, in Olanda, non sia superiore a 1,3/100.000 nati vivi ogni anno, la gravità dell'infezione induce a riflettere sulla necessità di applicare una prevenzione attraverso il controllo alimentare della donna gravida.

Khashu M, Osiovič H, Henry D, Al Khotani A, Solimano A, Speert DP. Persistent bacteremia and severe thrombocytopenia caused by coagulase-negative *Staphylococcus* in a neonatal intensive care unit. *Pediatrics* 2006 Feb; 117(2): 340-8.

Questo studio retrospettivo illustra i risultati ottenuti dall'analisi di batteriemie da *Stafilococchi* coagulasi negativi (CoNS) verificate nel periodo compreso fra il 2000-2002. Sono stati confrontati due gruppi di neonati, dei quali 64 con batteriemia persistente e 140 con batteriemia transitoria da CoNS. Nei due gruppi non si riscontravano differenze significative per le manifestazioni cliniche, età gestazionale, e basso peso.

La cateterizzazione non sembrava correlare con la persistenza della batteriemia.

La trombocitopenia sembrava invece correlare con la batteriemia persistente da CoNS, che, infatti, si riscontrava in 26 neonati appartenenti a questo gruppo (84% dei pazienti) e solo in 8 (13%) dei neonati in cui la batteriemia non era persistente. *Staphylococcus epidermidis* era più frequentemente isolato in entrambi i gruppi e dalla tipizzazione bio-molecolare si osservava che gli stipti non appartenevano ad un unico clone.

Rodriguez D, Almirante B, Park BJ, Cuenca- Estrella M, Planes Am et al. Candidemia in Neonatal Intensive Care Units: Barcelona, Spain *Pediatr Infect Dis J* 2006 Mar; 25(3): 224-229.

Scopo dello studio era quello di analizzare gli aspetti epidemiologici delle infezioni da funghi appartenenti al genere *Candida*, registrati nella provincia di Barcellona presso le Unità di Terapia Intensiva Neonatale. Lo studio era stato condotto nel corso del 2002-2003 ed aveva coinvolto cinque ospedali. Dall'analisi dei dati raccolti si evince che:

1. I casi di Candidosi sono stati 24, con incidenza pari a 32,6/100.000 nati vivi.
2. L'età gestazionale della madre era di 27,5 settimane (24-40,5) e l'infezione coinvolgeva principalmente neonati di basso peso (21 soggetti).
3. Tra i casi analizzati erano compresi due episodi di endoftalmite, uno di endocardite, uno di meningite ed anche uno di peritonite.
4. *C. parapsilosis* era la specie più frequentemente isolata e si osservava nel 67% dei casi. Tutti gli isolati erano sensibili al fluconazolo.
5. Il tasso di mortalità, pari al 21%, era abbastanza elevato e comparabile con i dati della letteratura.

Moutaj R, Tligui H, Sbai M, Lmimouni B, Elmellouki W. Congenital cutaneous candidiasis: a case report and review. *Bull Soc Path Exot* 2005 Dec; 98(5): 354-8.

Nel presente lavoro viene illustrato un caso d'infezione cutanea congenita da *Candida albicans*. Il caso si riferisce ad un neonato del peso di 3500 gr, nato con parto spontaneo alla 30-ima settimana di gestazione. Il neonato, in buone condizioni, mostrava alla nascita macule eritematose diffuse su tutta la cute ed a livello del tronco e delle estremità si osservavano pustole infette. L'esame microscopico e la coltura consentivano di identificare la *C. albicans* quale agente eziologico dell'infezione. Un trattamento topico con Econazolo consentiva la soluzione del caso in un tempo di 20 giorni. Gli autori sottolineano l'importanza di eseguire una rapida e corretta diagnosi sul neonato e soprattutto di sottoporre le gravide ad un controllo, onde evitare che il neonato venga infettato da *Candida albicans* durante passaggio attraverso il canale del parto.

Afroza S. Neonatal sepsis-aglobal problem: an overview. *Mymensingh Med J* 2006 Jan; 15(1): 108-14.

Per sepsi neonatale 1-2 milioni di neonati muoiono ogni anno e 30 milioni acquisiscono l'infezione, l'autore di questo lavoro ha analizzato i seguenti aspetti che caratterizzano le sepsi e suggerisce alcune modalità di prevenzione:

1. Le sepsi precoci (entro 48 ore dalla nascita) sono associate a fattori predisponenti prenatali e perinatali, quelle tardive (dopo 48-72ore) sono principalmente nosocomiali.
2. *Klebsiella pneumoniae* è la specie più frequentemente isolata nei paesi poco sviluppati.
3. Fattori di rischio principali sono il basso peso, procedure invasive ed inadeguato lavaggio delle mani degli operatori sanitari che curano i neonati.
4. L'antibiotico di prima scelta, per la terapia, sono l'Ampicillina e Gentamicina.

Tra le modalità di prevenzione sicuramente importanti sono:

- a) Massima attenzione alla norme di sterilità nell'uso di procedure invasive
- b) Accurata igiene del neonato e lavaggio delle mani degli operatori sanitari.
- c) Pronto uso di antibiotico per la cura della sepsi.

INFEZIONI SESSUALMENTE TRASMISSIBILI

a cura ANNA CALÌ

per il **COMITATO DI STUDIO AMCLI DELLE
INFEZIONI SESSUALMENTE TRASMESSE
(CoSIST)**

Geisler, William M. MD, MPH *; Yu, Shuying MPH +; Hook, Edward W. III MD *+

Chlamydial and Gonococcal infection in men without polymorphonuclear leukocytes on Gram stain: implications for diagnostic approach and management.

Sexually Transmitted Diseases October 2005; 32(10): 630-4.

Premesso che:

- il vetrino al Gram viene utilizzato per rilevare negli uomini un'infezione uretrale, suggestiva per infezione, e guidare le decisioni terapeutiche
- studi, condotti prima della disponibilità dei NAAT, hanno riscontrato che dal 16% al 50% degli uomini con documentata infezione da Chlamydia non aveva ≥ 5 PMN e più recentemente l'uso dei NAAT ha confermato che sia l'infezione da Chlamydia che da Gonococco può essere spesso asintomatica,

Gli autori, analizzando retrospettivamente i database clinici di 2629 uomini, afferenti alla clinica per malattie sessualmente trasmesse del Jefferson Conty Department of Health, dal febbraio 1998 all'agosto 2002, si propongono di:

- verificare la proporzione di uomini con infezione sia da Chlamydia che da Gonococco, diagnosticata con test di amplificazione genica o coltura, che non hanno al Gram evidenza di infiammazione
- comparare le loro caratteristiche cliniche con quelle di uomini con uretrite
- discutere le implicazioni dei loro riscontri rispetto alla diagnosi e al management delle infezioni uretrali da Chlamydia e Gonococco

I dati clinici registrati includevano: sintomi uretrali (disuria o secrezione uretrale), la presenza o assenza di secrezione uretrale al momento dell'esame, eventuale rapporto sessuale con partner con Chlamydia, Gonococco o Trichomonas; i dati di laboratorio includevano i risultati del test NAAT, della coltura e del vetrino uretrale al Gram. La significatività delle relazioni tra le caratteristiche cliniche, la distribuzione del conta di PMN e i patogeni uretrali veniva valutata tramite test parametrici e non.

Dei 2266 uomini utili allo studio 353 (16%) erano positivi per Chlamydia, 462 (20%) per Gonococco e 175 (8%) erano coinfectati con entrambi i microrganismi. Di questi 990 uomini infetti 261 (26%) erano asintomatici e 178 (18%) risultavano sia senza sintomi che senza secrezione uretrale all'esame. Tra gli uomini infettati con Chlamydia i PMN al Gram erano ≥ 5 in 291 soggetti (82%), da 1 a 4 in 20 (6%) e assenti in 42 (12%); tra i positivi per Gonococco, i PMN erano ≥ 5 in 433 (94%) da 1 a 4 in 6 (1%) e assenti in 23 (5%). I sintomi uretrali, la secrezione e/o ≥ 5 PMN erano assenti rispettivamente in 47 (13%) e in 22 (5%) delle infezioni da Chlamydia e Gonococco. Nessuno dei 47 positivi per Chlamydia e solo 4 dei 22 positivi per Gonococco rice-

veva terapia al momento della visita iniziale.

Gli autori sottolineano le implicazioni diagnostiche e terapeutiche conseguenti ai risultati del loro studio, peraltro il più ampio nel valutare la relazione tra infiammazione uretrale e infezione da Chlamydia e Gonococco determinata con il NAAT: il 12% delle infezioni da Chlamydia e il 5% da Gonococco non presentavano al Gram evidenza di infiammazione uretrale; tali soggetti inoltre erano più verosimilmente asintomatici, senza riscontro di secrezione e spesso con coltura negativa.

Concludono che i test NAAT possono essere il migliore strumento di screening per gli uomini asintomatici, sia per la loro maggiore sensibilità sia perché possono essere eseguiti su campioni non invasivi e che senza questi test molte infezioni non saranno trattate, favorendo la possibilità di complicanze e/o la trasmissione al partner.

Horner, P.J.

Should we still be testing for asymptomatic non-specific urethritis in departments of genitourinary medicine?

International Journal of STD & AIDS, Volume 16, Number 4, April 2005; 5: 273-7.

Recentemente è stato proposto che un test non invasivo, quale la ricerca con tecniche di amplificazione genica (NAATs) sia di Chlamydia trachomatis che di Neisseria gonorrhoeae sul campione di urine primo mitto, possa sostituire, negli uomini asintomatici, l'esame microscopico di routine. È stato asserito che tale pratica risulta, non solo costo-efficace per il migliore uso delle risorse ma anche più gradita dai giovani maschi asintomatici.

L'autore, riassumendo in questa review le evidenze disponibili, suggerisce una certa cautela nell'adottare entusiasticamente una tale metodologia: la diagnosi di uretrite asintomatica non specifica, (NSU) sarebbe così consegnata alla pattumiera della storia; ed invita ad un approccio basato sulle evidenze per capire come integrare le nuove tecnologie con il quotidiano management clinico.

Divide le evidenze secondo 3 linee di ragionamento:

1. un singolo NAAT su un singolo campione di urine potrebbe non identificare tutti gli uomini con infezione uretrale da C. trachomatis: secondo alcuni studi circa il 10% dei positivi può non essere rilevato e poiché le donne partner di uomini con NSU asintomatica risulterebbero a maggior rischio di avere un'infezione da Chlamydia, l'identificazione di uomini con NSU asintomatica, può rilevare attraverso la notifica al partner più donne clamidia-positivo. Sono stati anche evidenziati falsi positivi con i NAAT: la prevalenza di gonorrea asintomatica tra gli uomini che afferiscono a un dipartimento di medicina genito-urinaria è <2%, in questo contesto per avere un PPV >90% secondo i CDC occorrerebbe confermare tutti i positivi con un secondo NAAT o con la coltura, che presuppone la visita e il tampone uretrale.
2. L'inclusione delle NSU asintomatiche probabilmente aumenterà significativamente la performance diagnostica delle uretriti, e delle malattie sessualmente trasmesse: uomini chlamydia-negativi con un partner chlamydia-positivo più verosimilmente hanno una NSU asintomatica. Mycoplasma genitalium, patogeno emergente fortemente associato con NSU negli uomini, può causare malattia e infertilità nella donna; il suo

controllo si basa sulla diagnosi e trattamento delle uretriti nell'uomo.

3. l'uretrite, in individui HIV positivi, è associata con una aumentata carica virale nel liquido seminale, con questo meccanismo, infatti, le STD incrementano la trasmissione dell'HIV; l'antibioticoterapia porta ad una riduzione della carica virale e probabilmente dell'infettività.

Pertanto la diagnosi di uretrite in uomini che afferiscono a un dipartimento di medicina genito-urinaria, serve a 3 scopi: identificare prima e trattare immediatamente gli uomini con una STD; individuare un gruppo di donne (o partner maschili) con *C. trachomatis* e/o *M. genitalium* che potrebbero non essere stati identificati testando il loro partner solo con un test NAAT sulle urine; l'identificazione e il trattamento ridurrà l'infettività degli uomini HIV positivi.

Inoltre, dati i potenziali problemi con il gonococco, utilizzando i NAATs in una popolazione a bassa prevalenza, la fattibilità della coltura per gonococco e i vantaggi clinici di esaminare il paziente, sembra prematuro fare a meno del tampone uretrale; il solo uso dei NAATs, sebbene permetta di valutare un maggior numero di pazienti, può risultare meno efficace nella prevenzione delle malattie sessualmente trasmesse in una comunità.

L'autore conclude che, sebbene le evidenze suggeriscano che è costo-efficace includere nei programmi di screening per uretrite tutti i maschi asintomatici che afferiscono ai dipartimenti di medicina genito-urinaria, l'aumento della domanda e la continua riduzione delle risorse impongono, con urgenza, ulteriori ricerche per valutare giustamente questa prassi.

Schwebke, Jane R. MD; Desmond, Renee PhD
Risk factors for bacterial vaginosis in women at high risk for sexually transmitted diseases.
Sexually Transmitted Diseases November 2005; 32(11): 654-8.

La vaginosi batterica, estremamente comune in tutto il mondo, è stata ripetutamente associata al rischio di parto pre-termine e considerata fattore di rischio per l'acquisizione e forse trasmissione di STD, inclusi HIV e PID clinica o subclinica; c'è un generale accordo che riducendo la percentuale di BV si potrebbe arrivare ad una riduzione di tali complicanze, ma studi prospettici indirizzati a questo problema sono stati ostacolati dalla mancata comprensione della patogenesi della BV, che ulteriormente limita il trattamento e gli interventi di prevenzione. Studi precedenti hanno individuati 2 principali fattori di rischio, irraggioni e abitudini sessuali, e dai pochi studi che includevano dati raccolti dal partner sessuale maschile si è visto che uomini di donne con BV possono essere colonizzati nel tratto genitale con batteri associati a BV e che uretriti non gonococciche nel maschio sono significativamente correlate con BV nella partner femminile; più di recente studi sulla flora vaginale di donne lesbiche hanno comprovato che la BV, in queste coppie, è trasmessa sessualmente. Ma allo stato attuale, a dispetto delle evidenze disponibili, l'ipotesi che la BV sia trasmessa sessualmente non è stata ancora accettata.

Allo scopo di aggiungere ulteriori elementi di comprensione alla patogenesi della BV gli autori hanno predisposto uno studio longitudinale prospettico per esaminare i fattori di rischio per l'acquisizione di BV.

Venivano seguite prospetticamente per un anno 96 donne senza evidenza di BV ed erano anche studiati 37 uomini loro partner; venivano dettagliatamente rilevate la sintomatologia, perdite vaginali e odore, la storia, le pratiche sessuali, igieniche e contraccettive e l'anamnesi per vaginiti e STD; erano sottoposte ad esame pelvico e a test per vaginiti e STD; il Gram del vetrino vaginale era interpretato secondo i criteri di Nugent. Tutte erano reintervistate e riesaminate mensilmente per sei mesi e poi al 6° e al 9° mese; a tutte veniva chiesto di riferire al loro partner per l'arruolamento nel substudio maschile.

La percentuale di incidenza di nuovi episodi BV risultava di 2,33/ persone anno; il tempo medio di sviluppo 81 giorni; l'incidenza era significativamente associata con l'esposizione a un nuovo partner e alla frequenza di rapporti vaginali dall'ultima visita; l'uso del preservativo con un partner occasionale risultava protettivo. L'analisi multivariata dei fattori di rischio rilevava che fare sesso con un nuovo partner sin dalla prima visita era il solo riscontro significativamente associato con un episodio di BV. Riguardo ai dati riferiti agli uomini è interessante notare che uomini con un più alto numero di partner più facilmente avevano un partner che sviluppava BV; sebbene attualmente il meccanismo di trasmissione non è del tutto chiaro, i dati disponibili riguardo la colonizzazione transitoria del tratto genitale maschile con batteri associati a BV suggeriscono che la recente esposizione sessuale di un uomo con una donna con BV potrebbe accrescere o permettere la trasmissione ad una partner non infetta. Ulteriori studi sono necessari per focalizzare il meccanismo di trasmissione e la potenzialità di un adeguato trattamento del partner maschile per prevenire la trasmissione.

Peterman, Thomas A. MD, MSc; Heffelfinger, James D. MD, MPH; Swint, Emmett B. MS; Groseclose, Samuel L. DVM, MPH
The Changing Epidemiology of Syphilis
Sexually Transmitted Diseases: October 2005; 32(10) supplement: S4-S10

Dopo un fase di declino annuale sin dal 1990 e a meno di due anni dal lancio del "National Plan to Eliminate Syphilis in the United States" nel 2001 le percentuali di sifilide primaria e secondaria cominciano ad aumentare lievemente; nuove epidemie, che riguardano omosessuali maschi, sono state rilevate nella maggioranza delle grandi città americane.

Quali sono le persone a rischio e perché, quanto è ampio e diffuso, quali le cause di questo evento epidemico, che cosa ci può insegnare sulle altre STD e sull'HIV?

Gli autori svilupperanno questi temi rivedendo i dati della sorveglianza, riportati dai CDC, e le ricerche epidemiologiche pubblicate negli Stati Uniti e altrove.

L'incidenza della sifilide primaria e secondaria negli USA decresce drammaticamente con l'introduzione della penicillina e, dopo aver raggiunto il livello più basso alla fine del 1950, comincia gradualmente a risalire con picchi che si verificano circa ogni 10 anni.

Poiché i dati raccolti per la sorveglianza permettono di caratterizzare sottogruppi di popolazione in base a sesso, età, razza e paese di residenza, è possibile individuare specifici trends analizzando ampi sottogruppi.

Nelle 6 figure presenti nell'articolo vengono riportati:

1. le percentuali di sifilide primaria e secondaria negli USA, 1941-2003

2. le percentuali per sesso e il rapporto maschi:femmine, 1963-2003
3. le percentuali per età e sesso nel 1982,1990,2003
4. le percentuali per razza ed etnia e il rapporto neri:bianchi, 1981-2003
5. le percentuali per macroregioni, 1976-2003
6. le percentuali, distinte tra uomini e donne, in 7 grandi città,, 1981-2003

Una prima analisi di questi dati ha evidenziato che le epidemie del 1982, 1990, 2003 hanno differenti caratteristiche di genere, età, razza e distribuzione geografica; ulteriori informazioni da specifici studi hanno permesso di caratterizzare chi è coinvolto in questi diversi episodi epidemici. In particolare l'attuale epidemia coinvolge gli omosessuali maschi (MSM); sebbene i dati della sorveglianza nazionale non includono notizie sull'orientamento sessuale, l'alto rapporto maschi:femmine e una review delle notifiche al partner confermano che molti dei casi sono MSM e a più alto rischio gli HIV positivi, quelli con partner multipli e anonimi o che fanno uso di droghe quali le metanfetamine; l'epidemia si diffonde rapidamente e coinvolge le città che hanno ampie comunità di MSM.

Oltre che negli USA l'epidemia di sifilide compare simultaneamente in Europa e in Canada, coinvolgendo gli stessi gruppi a rischio: una review dei dati europei trova outbreaks di sifilide negli MSM in Olanda, Irlanda, Francia e Norvegia.

Paradossalmente l'efficacia delle terapie antiretrovirali, determinando un più ottimistico approccio e mutate strategie per la prevenzione del rischio HIV, può aver contribuito all'incremento della sifilide.

Esistono evidenze che altre Malattie Sessualmente Trasmesse sono anche in aumento tra gli MSM: un incremento della gonorrea è stato riportato in diverse aree, mentre risultano più difficile da tracciare i trend dell'infezione da HIV a causa del lungo e variabile periodo di incubazione. Esiste un piccolo dubbio che questi MSM con sifilide e HIV possano trasmettere l'HIV e che alcuni uomini non HIV positivi possano acquisire sifilide e HIV contemporaneamente, ma al momento attuale il loro contributo all'incidenza dell'HIV nella comunità non è ampio.

In questo momento l'epidemia appare circoscritta in una piccola proporzione di MSM che sono verosimilmente HIV positivi e praticano rapporti sessuali non protetti con molti partner sconosciuti. Se i comportamenti a rischio aumentano tra gli altri omosessuali, l'infezione può facilmente continuare; e sarà fondamentale per la sorveglianza monitorare, anche se con difficoltà, l'estensione dell'epidemia in questi altri gruppi.

Gli autori, augurandosi di poter conseguire lo stesso successo ottenuto con la popolazione eterosessuale, segnalano i molti interventi in corso, molti dei quali riportati in questo stesso supplemento di ottobre.

heterologous virus challenge in chimpanzees. Nat Med 2006 Feb; 12(2): 190-7.

L'eterogeneità genetica del virus dell'epatite C (HCV) rappresenta uno dei maggiori ostacoli allo sviluppo di un vaccino efficace, insieme alla scarsa conoscenza dei meccanismi immunologici che presiedono al controllo dell'infezione. La produzione di anticorpi neutralizzanti nel corso dell'infezione da HCV rappresenta un evento circoscritto e finora non ci sono studi che abbiano dimostrato come la risposta umorale possa controllare l'infezione da HCV. Al contrario, ci sono molti dati che attestano come invece sia la risposta immunitaria di tipo cellulare a presiedere efficacemente al controllo dell'infezione virale. Nelle forme acute self-limited l'eliminazione del virus è dovuta ad una pronta e vigorosa risposta policlonale da parte dei linfociti T CD8+ e CD4+. Questo tipo di risposta è invece molto debole mostrando un repertorio decisamente ristretto, nelle infezioni che cronicizzano. Da queste considerazioni ne deriva che un vaccino mirato a suscitare la risposta immunitaria di tipo cellulare è il miglior candidato per sopprimere la replicazione di HCV ed eliminarlo dall'organismo. Gli Autori hanno disegnato un vaccino anti-HCV costituito dalla componente non strutturale (da NS3 a NS5B) del virus pari ai due terzi dell'intero genoma di HCV, genotipo 1b, veicolato mediante vettori adenovirali (Adenovirus 6) noti per indurre una forte risposta cellulare T e dimostrano come questo prototipo sia in grado di proteggere scimpanzé inoculati con ceppo eterologo di HCV divergente per il 13% della sequenza aminoacidica rispetto al ceppo vaccinale. In particolare, viene dimostrato come tutti gli scimpanzé sviluppano a seguito del vaccino una risposta cellulare di tipo T CD4+ e CD8+ molto forte, anche a livello intraepatico (in particolare CD8) che risulta anamnesticamente attiva anche nei confronti di un ceppo eterologo di HCV con cui gli animali sono stati successivamente cimentati. La risposta anamnesticamente ha portato alla eliminazione del virus eterologo e alla risoluzione dell'infezione acuta senza segni di danno epatico in tutti gli scimpanzé sottoposti all'inoculo eterologo, tranne in uno che aveva già avuto una risposta T CD8 molto debole al vaccino e tale è stata anche la risposta anamnesticamente, con ha consentito una viremia persistente da HCV. Gli Autori concludono nella prospettiva di una immunoterapia per quei patogeni che come HCV sono capaci di evadere la risposta umorale, i loro risultati sperimentali danno importanti speranze.

Wakita T, Pietschmann T, Kato T, Date T, Miyamoto M, Zhao Z, Murthy K, Habermann A, Krausslich HG, Mizokami M, Bartenschlager R, Liang TJ. Production of infectious hepatitis C virus in tissue culture from a cloned viral genome. Nat Med 2005 Jul; 11(7): 791-6.

Nella ricerca di ottenere un sistema cellulare permissivo nei confronti della replicazione del virus dell'epatite C (HCV), gli Autori descrivono un sistema costituito dalla linea di epatoma umano HuH7, che risulta permissivo nei confronti della replicazione di un costrutto subgenomico di HCV, di genotipo 2a (JFH1), ottenuto da un ceppo che aveva provocato epatite fulminante in un soggetto. Il sistema consente la replicazione del virus in modo molto efficiente e il virus viene secreto in quantità tali nel surnatante che è stato possibile identificarlo con la microscopia elettronica, sottoforma di particelle sferoidali di circa 55 nm di diametro. Il virus così prodotto è risultato infettante per alcuni scimpanzé ed è stato neutralizzato da anticorpi specifici diretti contro il recettore/corecettore per HCV CD81 e da immunoglobuline provenienti da soggetti con infezione cronica. Il sistema

VIROLOGIA

Virus dell'epatite B e C a cura di VALERIA GHISSETTI

Folgori A, Capone S, Ruggeri L, Meola A, Sporeno E, Ercole BB, Pezzanera M, Tafi R, Arcuri M, Fattori E, Lahm A, Luzzago A, Vitelli A, Colloca S, Cortese R, Nicosia A. AT-cell HCV vaccine eliciting effective immunity against

così disegnato segna sicuramente un passo importante nello studio di HCV per una migliore comprensione del ciclo virale, anche di genotipi diversi dall'1, al fine di sviluppare efficaci strategie antivirali.

Targett-Adams P, McLauchlan J. Development and characterization of a transient-replication assay for the Genotype 2a hepatitis C virus subgenomic replicon. *J Gen Virol* 2005 Nov; 86: 3075-80.

Descrizione dei primi stadi replicativi del virus dell'epatite C mediante lo studio e l'espressione del costruito di HCV JFH1, ottenuto dal genotipo 2a, espresso in sistemi di linee cellulari umane sia da epatoma (HuH7) sia da osteosarcoma (U2OS). Nelle prime 72 ore dall'inizio del processo di trascrizione si registra un accumulo della proteina virale NS5A che correla con la comparsa di numerose copie di RNA virale. La replicazione di questo costruito risulta molto più efficiente di quella di altri simili, ma ottenuti dal genotipo 1b. Inoltre, il trattamento con interferon è in grado di inibire in modo molto efficace la replicazione di JFH1. Gli autori concludono che i sistemi basati sulla replicazione di RNA subgenomico JFH1 da genotipo 2a rappresentano un decisivo avanzamento rispetto a quelli basati su RNA subgenomici ottenuti dal genotipo 1b, in cui la replicazione del virus è spesso difficile e soggetta a mutazioni adattative.

Moradpour D, Brass V, Penin F. Function follows form: the structure of the N-terminal domain of HCV NS5A. *Hepatology*. 2005 Sep; 42(3): 732-5.

La replicazione del virus dell'epatite C (HCV) è un processo multi-step in cui un ruolo decisivo viene svolto da un complesso replicativo associato alle membrane del reticolo endoplasmatico liscio dell'epatocita. La fosfoproteina non strutturale NS5A (56-58 kd) è un componente attivo del complesso di replicazione di HCV, sia come regolatore della replicazione virale, sia come modulatore del ciclo cellulare in risposta alla presenza del virus. NS5A ha una estremità terminale che promuove l'associazione delle membrane. In particolare, NS5A contiene all'estremità N-terminale un regione elicoidale e 3 domains che legano un atomo di zinco essenziale per la replicazione di HCV, come dimostrato dal fatto che mutazioni di NS5A a tale livello sono letali per il virus stesso. Data l'importanza di NS5A nell'ambito del processo di replicazione di HCV, gli Autori caratterizzano la ultrastruttura del domain 1 che è quello che lega specificamente l'atomo di zinco e ne determinano sia la localizzazione citoplasmatica, sia la sede di interazione con le membrane del reticolo a livello delle quali avviene la replicazione di HCV.

Wolk B, Gremion C, Ivashkina N, Engler OB, Grabscheid B, Bieck E, Blum HE, Cerny A, Moradpour D. Stable human lymphoblastoid cell lines constitutively expressing hepatitis C virus proteins. *J Gen Virol*. 2005 Jun; 86: 1737-46.

Anche se gli studi sulla risposta immunitaria contro il virus dell'epatite C (HCV) sono limitati dall'assenza di sistemi cellulari permissivi nei confronti del virus, è noto che la risposta immunitaria di tipo cellulare gioca un ruolo fondamentale, più di quella umorale. Gli Autori descrivono una linea cellulare stabile di tipo linfoblastoide B che esprime il complesso di istocompatibilità HLA-A2, in cui viene espresso sia l'intero precursore poliproteico di HCV, sia il complesso NS3-4A. Il profilo proteico virale è stato espresso in modo invariato lungo tutto il periodo di stabilità della linea

cellulare (più di un anno), con espressione sia della componente strutturale che non-strutturale attestando in tal modo che linee linfoblastoidi B sono permissive e completamente funzionali nei confronti del virus C. I virioni sono identificabili nel citoplasma in strutture sferoidali e nell'area perinucleare, dove in particolare si segrega il complesso NS3-4A. Linfociti T citotossici da pazienti con epatite cronica da HCV, di classe HLA-A2, sono stati in grado di lisare in modo molto efficiente la linea cellulare esprimente HCV, segno che le proteine virali per essere riconosciute dai linfociti T devono essere presentate alla superficie della cellula attraverso il sistema maggiore di istocompatibilità di classe I.

Le Mire M, Miller DS, Foster W, Burrell CJ, Jilbert RA. Covalently Closed Circular DNA Is the Predominant Form of Duck Hepatitis B Virus DNA That Persists following Transient Infection *Journal of Virology*, 2005 Oct; 79(19): 12242-52.

Dopo la guarigione dall'infezione, il virus dell'epatite B (HBV) può essere presente sia nel siero ma sia soprattutto nel fegato, dando origine alle forme di epatite cosiddetta "occulta", descritte in soggetti sierologicamente negativi per l'antigene di superficie di HBV (HbsAg). La discussione scientifica riguarda se questo reservoir virale è in grado di replicarsi e quale ne è di conseguenza l'espressione antigenica. Gli Autori studiano il fenomeno dell'epatite B occulta, dopo apparente guarigione dall'infezione, in anatre infettate con Duck HBV (DHBV). La risoluzione dell'infezione, definita dalla scomparsa di DHbsAg dal fegato e dalla comparsa degli anticorpi anti-DHbsAg nel siero, si è verificata in 13 anatre su 15 nel primo mese dall'inoculo di DHBV. A nove mesi, il DNA virale era presente in 10 fegati su 11 esaminati, ma anche nella milza (7 casi su 11) e, in misura minore, nel rene, nel cuore e nelle ghiandole surrenali. In tutti gli animali che presentavano segni di residua presenza virale, non vi era traccia del virus nel siero, né nelle cellule mononucleate del sangue periferico. La principale forma di DHBV DNA nel fegato (dal 40 all'80%) era costituita dal "covalently closed circular DNA", come confermato mediante ibridizzazione con Southern blot. I livelli di DHBV DNA erano infezioni ad 1 copia per cellula. Questi risultati sono consistenti con uno stato di soppressione della replicazione virale di HBV nelle forme di epatite occulta negli individui sierologicamente guariti, in assenza di trasmissione dell'infezione e di aumento dei livelli residui di DNA virale nel fegato a seguito di trattamento con immunosoppressori.

Chen CJ, Yang HI, Su J, Jen CL, You SL, Lu SN, Huang GT, Iloeje UH; REVEAL-HBV Study Group. Risk of hepatocellular carcinoma across a biological gradient of serum hepatitis B virus DNA level. *JAMA*. 2006 Jan 4; 295(1): 65-73.

La presenza del DNA del virus dell'epatite B (HBV) nel siero è un marcatore di attiva replicazione virale e viene normalmente utilizzato come indicatore dell'efficacia della terapia antivirale. Gli Autori studiano la correlazione tra i livelli sierici di HBV DNA e il rischio di sviluppare il carcinoma epatico (HCC) in una coorte di 3653 soggetti di età tra 30 e 65 anni, con epatite B, positivi per l'antigene di superficie HbsAg e negativi per infezione da virus C, seguiti in modo prospettico per 11 anni a Taiwan (pari ad un follow-up di 41.779 persone-anno). Il numero di HCC registrati è stato di 164. Il rischio di sviluppare HCC è risultato significativa-

mente più elevato nei soggetti con sieropositività per l'antigene "e" (HbeAg) rispetto a quelli HbeAg negativi (RR 2.6, $p < 0.001$). È stato identificato un gradiente di rischio per HCC in rapporto al livello di HBV DNA al momento dell'ingresso nello studio: da 108 casi incidenti per 100,000 persone-anno per valori di HBV DNA inferiori a 300 copie/mL a 1152 per 100,000 persone-anno per valori di HBV DNA uguali o superiori a 1 milione di copie/mL. Il tasso di incidenza di HCC è stato di 1.3% e di 14.9%, rispettivamente, ma una osservazione attenta rivelava che già per valori di HBV DNA superiori a 10.000 copie/ml il rischio di HCC aumentava in modo importante rispetto alla categoria di pazienti con valori inferiori, e questo valeva in modo particolare anche per i pazienti HbeAg negativi, in cui il rischio di HCC quadruplicava passando da livelli di HBV DNA inferiori a 10.000 copie a livelli superiori. Gli Autori concludono che valori di HBV DNA superiori a 10.000 copie/ml sono pertanto un fattore di rischio elevato per lo sviluppo di HCC, indipendentemente dallo stato di HbeAg sieropositività e che di conseguenza gli end-point virologici della terapia andrebbero rivisti e ridisegnati alla luce di questa valutazione, in modo tale da abbattere la viremia da HBV al di sotto della soglia a rischio per lo sviluppo di HCC.

European Paediatric Hepatitis C Virus Network. A significant sex-but not elective cesarean section-effect on mother-to-child transmission of hepatitis C virus infection. *J Infect Dis* 2005 Dec 1; 192(11): 1872-9.

I fattori di rischio per la trasmissione verticale del virus dell'epatite C (HCV) sono poco chiari. Gli Autori riportano l'esperienza di uno studio multicentrico europeo coordinato dall'European Paediatric Hepatitis C Virus Network stabilitosi nel 1998 allo scopo di valutare in modo prospettico la trasmissione materno-fetale del virus e di identificare fattori di rischio, stabilendo linee guida e raccomandazioni per i ginecologi e i pediatri che seguono madri anti-HCV positive, relative gravidanze e figli. Lo studio comprende bambini anti-HCV positivi e/o HCV RNA positivi ad almeno 2 controlli dopo il 18° mese di vita. Il tasso di trasmissione verticale da madre anti-HCV positiva è stato di 6.2%; fattori di rischio sono stati la viremia matern e lo stato di sieropositività per il virus HIV in quanto in queste donne la viremia da HCV è più elevata. Interessante emerge l'osservazione che l'infezione si trasmette di più ai nascituri di sesso femminile che maschile, riflettendo probabilmente variabili biologiche legate al sesso relative alla suscettibilità all'infezione. Nessun effetto protettivo è stato esercitato dal parto cesareo, inteso come misura di prevenzione della trasmissione di HCV, rispetto a quello per via naturale. L'allattamento al seno nelle madri HCV positive non si è dimostrato un fattore di rischio significativo per la trasmissione dell'infezione. Gli Autori concludono quindi che allo stato attuale delle conoscenze circa la trasmissione verticale dell'infezione da HCV non esistono indicazioni per consigliare sia il parto per via naturale che l'allattamento al seno per le madri con infezione da HCV.

Pembrey L, Newella ML, Tovo PA; EPHN Collaborators. The management of HCV infected pregnant women and their children European paediatric HCV network. *J Hepatol*. 2005 Sep;43(3):515-25. Consensus contenente le raccomandazioni dell'European Paediatric Hepatitis C Virus Network relative alla gestione dei problemi in gravidanza delle donne con infezione da virus dell'epatite C (HCV). Viene fatta una revisione critica

dei principali studi relativi al problema e dei fattori di rischio che emergono per la trasmissione verticale di HCV, graduando ogni raccomandazione in rapporto al grado di evidenza. Gli Autori concludono che al momento attuale non esiste possibilità concreta di interventi preventivi sulla trasmissione verticale dell'infezione perché molte variabili sono ancora poco chiare e conflittuali, come l'effetto protettivo del parto cesareo e il ruolo dell'allattamento al seno. Su questa base, gli Autori sono concordi che non esiste nessuna indicazione all'introduzione dello screening antenatale per l'infezione da HCV e che per le donne in gravidanza con infezione HIV e HCV devono essere seguite le linee guida relative all'infezione da HIV.

Atkins M, Nolan M. Sexual transmission of hepatitis B. *Curr Opin Infect Dis*. 2005 Feb; 18(1): 67-72.

Revisione critica della Letteratura recente relativa alla trasmissione del virus dell'epatite B (HBV) per via sessuale e delle misure di prevenzione per evitarne la trasmissione attraverso tale via. Nonostante l'introduzione dei programmi di vaccinazione contro HBV in molti paesi, la trasmissione sessuale continua a rappresentare una via molto importante di diffusione del virus in alcuni gruppi ad alto rischio come gli omosessuali in cui negli Stati Uniti il 29% delle epatiti acute è da HBV, i soggetti dediti all'uso di stupefacenti per via endovenosa e i carcerati dove la percentuale di sieropositività per HBV varia dal 13 al 47%. Tali gruppi a rischio sono anche quelli dove l'impatto della vaccinazione anti-HBV è più problematico. Gli Autori concordano che la trasmissione sessuale di HBV rimane un problema aperto, solo parzialmente risolto dalle campagne di educazione sanitaria e di vaccinazione, rappresentando comunque anche nei paesi occidentali e negli Stati Uniti circa il 50% dei casi di epatite acuta nei giovani. Solo un forte implemento dei programmi di educazione e di vaccinazione estesi in particolare alle categorie più a rischio può essere una strategia efficace per il contenimento della diffusione del virus attraverso tale via.

Alter MJ. Epidemiology of viral hepatitis and HIV coinfection. *J Hepatol* 2006; 44(1 Suppl): S6-9.

Revisione di carattere epidemiologico delle infezioni dai virus epatitici B (HBV) e C (HCV) nelle infezioni da HIV. Nei pazienti con infezione da HIV, HBV è responsabile di epatiti croniche nel 6-14% di essi, con un gradiente che va dal 4-6% negli eterosessuali, al 7-10% nei soggetti dediti agli stupefacenti per via endovenosa e al 9-17% negli omosessuali. La diffusione di HCV è maggiore, essendo presente nel 25-30% dei soggetti HIV-positivi, con un gradiente che va rispettivamente dal 1-12% negli omosessuali, al 9-27% negli eterosessuali e al 72-95% nei tossicodipendenti per via endovenosa. Ne risulta quindi che l'epidemiologia delle infezioni da virus epatitici vede nei soggetti HIV-positivi una maggiore diffusione per via sessuale di HBV mentre per HCV è la diffusione per via ematica legata alla tossicodipendenza che rimane la principale via di trasmissione del virus.

Akiba J, Umemura T, Alter HJ, Kojiro M, Tabor E. SEN virus: epidemiology and characteristics of a transfusion-transmitted virus. *Transfusion* 2005 Jul; 45(7): 1084-8.

Il virus SEN (SEN-V) è un virus privo di envelope, a DNA a singola elica che si trasmette per via ematica. Dati epidemiologici indicano che il virus è presente in circa il 30% dei pazienti che ricevono trasfusioni in corso di interventi chirur-

gici, a fronte di una prevalenza del 3% nella popolazione generale. Di conseguenza, gli Autori ribadiscono che la trasmissione di SEN-V rappresenta un importante problema trasfusionale, come attestato anche da analisi di sequenza che rivelano omologie del 99% tra ceppo del donatore e quello del ricevente. Rimane comunque incerta l'attribuzione a SEN-V di quadri clinici e istopatologici di epatite virale o se la sua presenza nel fegato possa esacerbare la sofferenza determinata da altri virus come quello dell'epatite B o C, che spesso si trovano associati alla presenza di SEN-V nello stesso donatore. In attesa di studi mirati a definire il ruolo di SEN-V nella patologia epatica, il problema della trasmissione trasfusionale è sicuramente di complessa gestione.

Virus Influenzali

a cura di VALERIA GHISSETTI
e MANUELA PEGORARO

Tumpey TM, Basler CF, Aguilar PV, Zeng H, Solorzano A, Swayne DE, Cox NJ, Katz JM, Taubenberger JK, Palese P, Garcia-Sastre A. Characterization of the reconstructed 1918 Spanish influenza pandemic virus. *Science*. 2005 Oct 7; 310(5745): 77-80.

Gli Autori descrivono la ricostruzione del virus responsabile della pandemia del 1918 attraverso il recupero del genoma virale da tessuto polmonare sia fissato in formalina sia congelato, appartenente ad un abitante dell'Alaska deceduto in occasione di tale epidemia. Attraverso l'applicazione della tecnologia di "reverse genetics" gli Autori descrivono il processo di generazione degli 8 segmenti di RNA genomico del prototipo del virus responsabile della pandemia e ne viene studiata la virulenza sistemi cellulari, uova embrionale e topi. Il virus generato è risultato particolarmente virulento su sistemi cellulari replicandosi indipendentemente dalla presenza di tripsina nel mezzo, che invece è richiesta dai più comuni e meno virulenti virus influenzali, in quanto permette il rilascio del virione dalla cellula infettata. Sulle uova embrionate la dose letale del virus del 1918 è risultata simile a quella di altri virus aviari provocando la morte dell'embrione in una media di 4 giorni. I topi mostravano elevati titoli molto elevati di virus nel polmone già 4 giorni dopo l'inoculo intranasale, a cui è seguita la morte della maggior parte di essi nel giro di 3 giorni, a causa di una grave forma di bronchiolite e alveolite necrotizzante. I pazienti deceduti nel 1918 presentavano infatti un quadro di broncopneumopatia acuta con edema polmonare, bronchiolite e alveolite emorragica.

Taubenberger JK, Reid AH, Lourens RM, Wang R, Jin G, Fanning TG. Characterization of the 1918 influenza virus polymerase genes. *Nature*. 2005 Oct 6; 437(7060): 889-93.

La polimerasi del virus dell'influenza A è un eterodimero formato da un complesso di 3 proteine: PA, PB1 e PB2 a cui si aggiunge un piccolo peptide recentemente identificato, PB1-F2 che sembra avere un ruolo importante nell'indurre l'apoptosi della cellula infettata. Nel processo di passaggio dei virus influenzali all'ospite umano e animale il complesso della polimerasi virale subisce delle mutazioni adattative che hanno il significato di rendere efficiente la replicazione del virus nel nuovo ospite. Una mutazione puntiforme specifica della componente PB2, E627K, è stata associata all'adattamento del virus alle cellule di mammiferi, ma è stata anche descritta nei ceppi ad alta patogenicità di H5N1 e nel ceppo H7N7 responsabile del cluster

epidemico in Olanda nel 1997. Gli Autori presentano un importante studio sulla filogenesi del genoma completo del virus responsabile dell'epidemia del 1918 e propongono la tesi secondo cui questo virus sia derivato da una fonte aviaria e non da eventi di ricombinazione tra virus di specie differenti, come un tempo si riteneva e che sono invece stati alla base delle epidemie influenzali del 1957 e del 1968. L'ipotesi si basa sullo studio e l'analisi filogenetica della polimerasi del virus che ha evidenziato molte analogie con le polimerasi di virus aviari rispetto alle quali presenta comunque una significativa distanza evolutiva che fa presupporre un processo evolutivo avvenuto in tempi molto rapidi che ha portato all'adattamento di un virus aviario all'uomo. In particolare, è presente nella polimerasi virale una corta sequenza mutata di circa 10 aminoacidi che differenzia il virus del 1918 e i successivi virus influenzali umani da quelli di origine aviaria. Un certo numero di questi aminoacidi che sono emersi nel processo evolutivo di adattamento all'uomo sono stati identificati nei ceppi di H5N1 che hanno colpito l'uomo e vengono indicati dagli Autori come fondamentali nel processo di adattamento dei virus aviari all'uomo.

Ghedini E, Sengamalay NA, Shumway M, Zaborsky J, Feldblyum T, Subbu V, Spiro DJ, Sitz J, Koo H, Bolotov P, Dernovoy D, Tatusova T, Bao Y, St George K, Taylor J, Lipman DJ, Fraser CM, Taubenberger JK, Salzberg S. Large-scale sequencing of human influenza reveals the dynamic nature of viral genome evolution. *Nature*. 2005 Oct 20; 437(7062): 1162-6.

Gli Autori presentano un protocollo di analisi di sequenza e di studi di filogenesi su larga scala, mirati ad una maggiore comprensione della dinamica evolutiva dei virus influenzali e del processo di progressivo adattamento dei virus A, nel passaggio da una specie ad un'altra. Vengono sequenziati e analizzati 209 genomi completi dei virus dell'influenza A per un totale di più di 2 milioni di nucleotidi. Sulla base di analisi della variabilità e della distanza genetica gli Autori creano una delle più vaste ed importanti scale filogenetiche dei virus A.

Il primo numero del 2006 di *Emerging Infectious Diseases* dedica ampio spazio al rischio di un'imminente pandemia influenzale con una serie di lavori di carattere storico, preventivo e di politica sanitaria.

E. D. Kilbourne. Influenza Pandemics of the 20th Century.

Emerging Infectious Diseases. 2006 Jan 12 (1): 9-13
J. C. Gaydos, F. H. Too, R. A. Hodder, P.K. Russell. Swine Influenza A Outbreak, Fort Dix, New Jersey, 1976
Emerging Infectious Diseases. 2006 Jan 12 (1): 23-29
D.J. Sencer, J. D. Millar. Reflections on the 1976 Swine Flu Vaccination Program.

Emerging Infectious Diseases. 2006 Jan 12 (1): 29-33
R. Krause. The Swine Flu Episode and the Fog of Epidemics.

Emerging Infectious Diseases. 2006 Jan 12 (1): 40-43
Il primo lavoro ripercorre le tre grandi pandemie del '900: la Spagnola del 1918, il cui virus è stato recentemente "ricostruito" tra mille polemiche, con l'obiettivo di individuare i determinanti di virulenza di un virus per vari aspetti ritenuto analogo all'attuale virus aviario; l'Asiatica del '57, la prima ad essere indagata e seguita dal punto di vista microbiologico nel suo evolversi e primo banco di prova delle strategie vaccinali; la Hong Kong del '68 il cui virus (H3N2) è anco-

ra in circolazione a trentasette anni di distanza. Oltre a queste grandi pandemie vengono ricordate anche le "pandemie mancate" sostenute da discendenti dell'H1N1 (il virus della Spagnola): quella del '47 che ha coinvolto le truppe americane in estremo oriente, sostenuta da una variante in grado di eludere la risposta immune indotta dalla vaccinazione con lo stesso ceppo, quella del '76 (quando era già in circolazione l'H3N2) circoscritta ad una base militare americana e quella del '77 sviluppata in Russia.

L'epidemia del '76, verificatasi a Fort Dix, viene esaminata nel dettaglio negli altri tre Lavori citati. Essa offre infatti lo spunto per una serie di valutazioni e riflessioni sulle strategie adottate per affrontare una temuta pandemia che di fatto non si è realizzata. Di fronte al decesso di due reclute da poco arruolate nella base di addestramento militare di Fort Dix, in New Jersey, per forme simil influenzali, accompagnate dall'isolamento di un ceppo virale (H1N1) diverso da quello in circolazione (H3N2), nei confronti del quale tutti i soggetti di età inferiore ai 50 anni erano privi di memoria immunologica, le autorità sanitarie americane sostennero fortemente un programma di vaccinazione di massa: in 6 mesi venne preparato il nuovo vaccino contenente anche il ceppo di recente isolamento e in 10 settimane 45 milioni di persone vennero immunizzate. I Lavori descrivono quanto pesarono nella rapidità di quella decisione lo spettro della pandemia del 1918 ed il manifestarsi, negli stessi mesi, di un altro focolaio epidemico di polmoniti, identificate poi come casi di legionellosi; descrivono il coinvolgimento delle più alte cariche governative e dei mezzi di comunicazione di massa nell'illustrazione di questo programma alla popolazione e le difficoltà tecniche, sanitarie, legali ed economiche alla sua realizzazione. Il verificarsi di effetti avversi correlati, almeno dalla stampa, alla vaccinazione, unitamente al disatteso evento pandemico portarono, a metà dicembre dello stesso anno, alla sospensione del programma che venne definito dai media un "disastro" allestito più per convenienza politica che per un reale rischio di emergenza sanitaria. Il responsabile dei CDC venne sostituito.

A. S. Monto. Vaccines and Antiviral Drugs in Pandemic Preparedness.

Emerging Infectious Diseases. 2006 Jan 12 (1): 55-60

P. Palese. Making Better Influenza Virus Vaccines?

Emerging Infectious Diseases. 2006 Jan 12 (1): 61-65

C. J. Luke, K. Subbarao. Vaccines for Pandemic Influenza.

Emerging Infectious Diseases. 2006 Jan 12 (1): 66-72

A. S. Fauci. Pandemic Influenza Threat and Preparedness

Emerging Infectious Diseases. 2006 Jan 12 (1): 73-77

Gli ultimi quattro Lavori affrontano più dettagliatamente le misure preventive e terapeutiche disponibili e da predisporre per far fronte ad un'eventuale pandemia. Partendo dal presupposto che solo la vaccinazione può ridurre la diffusione del virus pandemico ma che, attualmente, non è possibile prevedere quali saranno le sue caratteristiche antigeniche, seppure l'H5N1 sia a capo della lista e attualmente il più temibile per tasso di letalità, P. Palese, C. Luke e K. Subbarao, nei rispettivi lavori sottolineano la necessità di validare le nuove tecnologie di ricombinazione genica per produrre più velocemente vaccini efficaci e sicuri; di mettere a punto approcci alternativi, come la produzione di virus vaccinici attenuati mediante modificazione della sequenza codificante per la proteina non strutturale 1, che normalmente blocca l'azione dell'interferone nelle cellule infette, e di virus vaccinici in grado di indurre una risposta immuni-

taria cross-reattiva nei confronti di un più ampio spettro di varianti antigeniche (il cosiddetto "vaccino universale"); di studiare a fondo le migliori strategie di vaccinazione (dosi, modalità, tempi di somministrazione, necessità o meno di adiuvanti) con tutti i possibili candidati (essenzialmente tutti i virus aviari isolati nell'ultimo decennio: H5N1, H9N2, H7N7); di approntare, infine, una sorta di regolamentazione per la distribuzione su scala mondiale di tali vaccini.

Sul fronte farmacologico, le caratteristiche dei due tipi di antivirali disponibili (amantadina e rimantadina da un lato, e gli inibitori della neuraminidasi, zanamivir e oseltamivir, dall'altro) sono descritte nel lavoro di A. Monto. Com'è noto, nei confronti dell'H5N1 è essenzialmente l'oseltamivir ad avere un valore terapeutico anche se la sua efficacia nei confronti degli isolati più recenti sembra diminuita rispetto al ceppo identificato nel '97. L'Autore inoltre sottolinea la precarietà nel disporre di un unico farmaco efficace prodotto da un'unica casa farmaceutica e a tal proposito, C. Keller su un articolo pubblicato nel settembre 2005 dal settimanale svizzero Das Magazin si chiede quanto sia giusto speculare, ricavando vantaggi economici enormi, su una minaccia di pandemia.

A conclusione dell'ultimo Lavoro citato, A. Fauci auspica una cooperazione globale per utilizzare al meglio risorse che, nel caso, saranno comunque limitate.