



GUIDA PRATICA

LE IMMUNODEFICIENZE NELL'AMBULATORIO DEL PEDIATRA





Quest'opera è protetta dalla legge sul diritto d'autore. Tutti i diritti, in particolare quelli relativi alla traduzione, alla ristampa, all'utilizzo di illustrazioni e tabelle, alla registrazione su microfilm o in database, o alla riproduzione in qualsiasi altra forma (stampata o elettronica) rimangono riservati anche nel caso di utilizzo parziale. La riproduzione di quest'opera, anche se parziale, è ammessa solo ed esclusivamente nei limiti stabiliti dalla legge sul diritto d'autore ed è soggetta all'autorizzazione dell'editore. La violazione delle norme comporta le sanzioni previste dalla legge.

© Sintesi InfoMedica S.r.l.

Sebbene le informazioni contenute nella presente opera siano state accuratamente vagliate al momento della stampa, l'editore non può garantire l'esattezza delle indicazioni sui dosaggi e sull'impiego dei prodotti menzionati e non si assume pertanto alcuna responsabilità sui dati riportati, che dovranno essere verificati dal lettore consultando la bibliografia di pertinenza.

Copyright © 2016 by Sintesi InfoMedica S.r.l.
Via Ripamonti, 89 - 20141 Milano (MI)
Tel. +39 02 56665.1 - Fax +39 02 97374301

Stampa: Sincronia di Sainaghi Sandro
via C. Balbo, 28 - 20025 Legnano (MI) - Italia

Stampato nel mese di settembre 2016

ISBN 978-88-87844-20-7

GUIDA PRATICA

LE IMMUNODEFICIENZE NELL'AMBULATORIO DEL PEDIATRA

Ideazione e cura:
Michele Fiore

Supervisione tecnico-scientifica:
Marzia Duse



Autori

Mattia Algeri

Dipartimento di Scienze Pediatriche, Università di Pavia.

Chiara Azzari

Azienda Ospedaliero-Universitaria A. Meyer, Università di Firenze.

Raffaele Badolato

Dipartimento di Scienze Cliniche e Sperimentali, Clinica Pediatrica, Università degli Studi di Brescia, ASST Spedali Civili di Brescia.

Salvatore Barberi

Dipartimento Materno Infantile ASST Fatebenefratelli-Sacco, Milano.

Marcello Bergamini

Pediatra di Famiglia, AUSL Ferrara.

Caterina Cancrini

Dipartimento Pediatrico Universitario Ospedaliero (DPUO), IRCCS Ospedale Bambino Gesù, Università di Roma Tor Vergata.

Carlo Capristo

Dipartimento della donna del bambino e di Chirurgia Generale e Specialistica, Seconda Università degli studi di Napoli.

Fabio Cardinale

Direttore UOC di Pediatria e Immunologia Pediatrica, Azienda Ospedaliero-Universitaria Consorziale "Policlinico-Giovanni XXIII" Bari, Responsabile Centro di Riferimento Regionale sulle Immunodeficienze Primitive.

Anna Maria Castellazzi

Dipartimento di scienze clinico-chirurgiche, diagnostiche e pediatriche, Unità di pediatria, Università degli studi di Pavia.

Elena Chiappini

SODc Malattie Infettive, Ospedale Pediatrico Universitario Anna Meyer, Dipartimento di scienze della salute, Università di Firenze.

Bianca Cinicola

Dipartimento di Pediatria e NPI, Università Sapienza, Roma.

Giovanni Corsello

*Professore Ordinario di Pediatria - Clinica Pediatrica - Università degli Studi di Palermo
Presidente Società Italiana di Pediatria (SIP)*

Stefano Curto

*Dipartimento della donna del bambino e di Chirurgia Generale e Specialistica.
Seconda Università degli Studi di Napoli.*

Rosa Maria Dellepiane

UOC Pediatria a Media Intensità di Cura, Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milano.

Dora Di Mauro

Specializzanda in Pediatria, Dipartimento Materno Infantile dell'Azienda Ospedaliero-Universitaria di Parma.

Giuseppe Di Mauro

Presidente Società Italiana di Pediatria Preventiva e Sociale (SIPPS) - Segretario Nazionale FIMP alle Attività Scientifiche ed Etiche - Pediatra di Famiglia ASL Caserta, Regione Campania.

Marzia Duse

Dipartimento di Pediatria, Direttore UP Immunologia Pediatrica, Presidente CCL Infermieristica Pediatrica, Coordinatore Scuola di Specializzazione in Pediatria. Sapienza, Università di Roma, Presidente SIAIP.

Lucia Diaferio

Dipartimento di Assistenza Integrata, Scienze e Chirurgia Pediatrica, Università di Bari "Aldo Moro".

Maurizio de Martino,

Professore ordinario di pediatria e Direttore della scuola di specializzazione, Università di Firenze, Direttore della Clinica Pediatrica I, Direttore del Meyer Health Campus, Ospedale Pediatrico Anna Meyer, Firenze.

Gigliola Di Matteo

Dipartimento Medicina dei Sistemi, Pediatria - Università degli studi di Roma Tor Vergata.

Michele Fiore

Pediatra di Famiglia ASL3, Genova.

Stefano Frenos

SOD Oncologia, ematologia e trapianto di cellule staminali emopoietiche. Ospedale Pediatrico-Universitario Anna Meyer, Firenze.

Luisa Galli

Dipartimento di Scienze della Salute, Università di Firenze, Struttura Organizzativa Complessa di Malattie Infettive Pediatriche, Ospedale Pediatrico Anna Meyer, Firenze.

Daniele G. Ghiglioni

UOSD Pediatria ad alta intensità di cura del Dipartimento di Fisiopatologia medico-chirurgica e dei trapianti dell'Università degli Studi di Milano e Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milano.

Simona Graziani

Allergologia e Immunologia Pediatrica, Università degli Studi di Roma "Tor Vergata", Policlinico Tor Vergata, Roma.

Massimo Landi

*Pediatra di Famiglia ASL TO1, Torino.
Collaboratore di ricerca Pneumologia ed Allergologia Pediatrica Ibim - CNR Palermo.*

Lucia Leonardi

UP di Allergologia e Immunologia Pediatrica. Dipartimento di Pediatria e NPI. Policlinico Umberto I. "Sapienza" Università di Roma.

Franco Locatelli

Dipartimento di Oncoematologia Pediatrica, IRCCS, Ospedale Bambino Gesù, Roma.

Vassilios Lougaris

Dipartimento di Scienze Cliniche e Sperimentali, Clinica Pediatrica, Università degli Studi di Brescia, ASST Spedali Civili di Brescia.

Alberto Martelli

Direttore Unità Operativa Complessa Pediatria, Ospedale G. Salvini, Garbagnate Milanese.

Baldassarre Martire

U.O. di Oncoematologia e Immunologia Pediatrica, Azienda Ospedaliero-Universitaria Policlinico - Giovanni XXIII, Bari.

Vito Leonardo Miniello

Dipartimento di Assistenza Integrata, Scienze e Chirurgia Pediatrica, Università degli Studi di Bari "Aldo Moro".

Carlotta Montagnani

Struttura Organizzativa Complessa di Malattie Infettive Pediatriche, Ospedale Pediatrico Anna Meyer.

Viviana Moschese

Professore Associato di Pediatria, Allergologia e Immunologia Pediatrica, Università degli Studi di Roma "Tor Vergata", Policlinico Tor Vergata, Roma.

Diego Peroni

Professore Ordinario di Pediatria, U.O. di Pediatria, AOUP, Università di Pisa, Pisa.

Andrea Pession

Professore Ordinario di Pediatria, Alma Mater Studiorum Università degli Studi di Bologna, Direttore della Scuola di Specializzazione in Pediatria, Direttore UO Pediatria, Policlinico di Sant'Orsola, Bologna.

Claudio Pignata

Direttore Immunologia Pediatrica, Dipartimento di Scienze Mediche Traslazionali, Università Federico II, Napoli.

Alessandro Plebani

Dipartimento di Scienze Cliniche e Sperimentali, Clinica Pediatrica, Università degli Studi di Brescia, ASST Spedali Civili di Brescia.

Silvia Ricci

Azienda Ospedaliero-Universitaria A. Meyer, Università di Firenze

Giovanni Simeone

Pediatra di famiglia, ASL Brindisi, Mesagne.

Annarosa Soresina

Unità di Immunologia Pediatrica, Clinica Pediatrica, ASST Spedali Civili di Brescia, Università degli Studi di Brescia.

Luigi Terracciano

Pediatra di Famiglia, ASL di Milano.

Aberto Tommasini

Clinica Pediatrica e Laboratori di Immunopatologia, IRCCS Burlo Garofolo, Trieste.

Elvira Verduci

Ricercatore Universitario Dipartimento di Scienze della Salute, Ospedale San Paolo Università degli Studi di Milano.

Maria Carmen Verga

Pediatra di Famiglia, ASL Salerno, Vietri sul Mare.

INDICE

Presentazione - G. Corsello, G. Di Mauro, M. Duse	2
Introduzione. La classificazione esemplificata delle immunodeficienze primitive M. Duse	4
I dubbi diagnostici del pediatra in ambulatorio	8
- Le infezioni respiratorie ricorrenti e le immunodeficienze primitive - C. Capristo, S. Curto	8
- Infezioni in altre sedi - M. Landi	12
- Ritardo di crescita e approccio nutrizionale nelle immunodeficienze primitive V.L. Miniello, E. Verduci	13
- Autoimmunità - M. Fiore	23
- Le febbri periodiche/le sindromi auto-infiammatorie - M. Fiore, B. Cincola	25
- Tumori - M.C. Verga, B. Cincola	31
- Diarrea cronica/intrattabile - D. Peroni	33
Il sospetto clinico: i 10 segni di allarme della Jeffrey Model Foundation A. Soresina, V. Moschese, S. Graziani, G. Simeone	36
Le indagini diagnostiche	41
- Le indagini di "primo livello" - L. Leonardi, F. Cardinale, D.G. Ghigliani	41
- Le indagini di "secondo livello" - A. Pession, R. Badolato, B. Martire, A. Castellazzi	51
Screening neonatale - C. Azzari, S. Ricci	62
Le vaccinazioni nelle immunodeficienze primitive - A. Plebani, V. Lougaris, M. Bergamini	71
Consulenza genetica - C. Cancrini, A. Tommasini, G. Di Matteo	82
Il trapianto di cellule staminali emopoietiche - F. Locatelli, M. Algeri	91
Immunodeficienze acquisite - C. Montagnani, L. Galli, M. de Martino	102
Quali sono i dubbi gestionali di un bambino con immunodeficienza? A casa, a scuola, in viaggio - A. Martelli, S. Barberi, R.M. Dellepiane, L. Terracciano, D. Di Mauro	110
Follow-up e qualità di vita	120
- Come seguire il bambino trapiantato - E. Chiappini, S. Frenos	120
- Il bambino in terapia sostitutiva con immunoglobuline - A. Soresina	126
L'immunodeficienza come modello di assistenza - M. Fiore	130
La rete delle immunodeficienze primitive (IPINET) in Italia - C. Pignata	135
Glossario immunologico - L. Diaferio	138

Presentazione

G. Corsello, G. Di Mauro, M. Duse

Negli ultimi decenni le possibilità di diagnosticare le Immunodeficienze Primitive (IDP) si sono enormemente ampliate ed estese al riconoscimento delle loro basi molecolari: attualmente conosciamo le basi genetiche di oltre 300 IDP. A riprova di quanto ebbe a dire Amos Etzioni in un suo famoso editoriale “L’ingresso della genetica nella immunologia non rappresenta l’inizio della fine, bensì la fine dell’inizio”, con queste acquisizioni si è aperta una nuova era, sia speculativa che transazionale, con importanti ricadute anche in ambito terapeutico, a tutto vantaggio dei bambini con IDP. Sapere quali sono le basi genetiche delle immunodeficienze ci consente infatti di poter intervenire con precisione sia nei consigli genetici e di pianificazione familiare, che nell’avvio a Centri qualificati per le migliori terapie, sia molecolari, che cellulari o genetiche. Sono tutti approcci che possono correggere alla base la malattia e guarirla. Anche la terapia genica sta muovendo i primi passi e deve essere affinata, ma il traguardo non appare così lontano.

Le IDP sono patologie rare che per la loro complessità ed eterogeneità si prestano ad essere sottostimate ma talvolta, paradossalmente, possono essere oggetto di sovrastima (sono le malattie più frequentemente sospettate: si pensi al bambino con infezioni ricorrenti). Sono caratterizzate da un ritardo considerevole di diagnosi anche le malattie relativamente più frequenti, come la immunodeficienza comune variabile, che nei registri lamenta un ritardo di diagnosi di oltre uno-due anni.

Il problema delle immunodeficienze, peraltro, è proprio intrinseco alla estrema eterogeneità dei quadri clinici sia di esordio che evolutivi (storia naturale) e con sintomi clinici non sempre correlati tra loro, forme sindromiche dai quadri più variegati, accomunati però dal fatto che tutte le IDP hanno una pesante ripercussione sulla qualità di vita di questi bambini, quando non ne mettono già da subito -alla nascita- in pericolo la vita stessa. Sono dunque patologie difficili da sospettare, diagnosticare, approssicare e rappresentano una sfida per il pediatra.

Tradizionalmente siamo indotti a sospettare una immunodeficienza quando ci troviamo di fronte bambini che ammalano spesso, che soffrono di infezioni o febbri ricorrenti, ma nel corso di questi ultimi 60 anni, dalla identificazione della prima immunodeficienza ad opera di Bruton, l’esperienza e le conoscenze più fini dei meccanismi immunologici di base ci hanno permesso di capire che le IDP comprendono in realtà un ampio spettro di malattie che possono anche non avere le infezioni come sintomo cardine, ma che possono invece essere caratterizzate dalla presenza di manifestazioni autoimmuni anche gravissime e sono o possono essere gravate da un pesante rischio di complicanze neoplastiche.

Ne consegue che una diagnosi precoce è di estrema importanza e la responsabilità del pediatra enorme, tanto maggiore quanto più precoce e grave è la malattia. Basti pensare alle immunodeficienze combinate gravi (SCID) che esordiscono nei primi giorni/mesi di vita con diarrea cronica, malassorbimento, infezioni da germi inusuali o da opportunisti: l’avvio tempestivo in un Centro di terzo livello può salvare la vita e portare anche alla

guarigione. I recenti dati americani sul successo del trapianto di cellule staminali sono emblematici: guarisce oltre il 90% dei bambini con SCID, se trapiantati prima del terzo mese di vita e prima che si instaurino infezioni gravi.

Questa Guida non si prefigge la trattazione completa e approfondita delle varie IDP ma è nata con il preciso scopo di dare strumenti di facile consultazione per il pediatra "generalista" (pediatra di famiglia e pediatra ospedaliero). L'impostazione schematica e pragmatica con cui è stata costruita vuole aiutare il pediatra generalista quando si trova di fronte ad un bambino il cui quadro clinico è di difficile inquadramento e vuole far porre attenzione su quei segni o sintomi che possono o devono far nascere il sospetto diagnostico di IDP. I primi capitoli ci guidano fra i sintomi che ne caratterizzano le forme più frequenti, portandoci a un ragionamento diagnostico differenziale esaustivo e guidandoci nella richiesta e interpretazione degli esami. In un momento così critico della Sanità, infatti, il discorso di appropriatezza e l'attenzione alla selezione degli esami più utili all'inquadramento diagnostico sono assolutamente critici e importanti anche in un quadro di economia sanitaria. Per inciso, va sottolineato che non sono state trascurate nemmeno le forme secondarie e si forniscono suggerimenti anche per l'inquadramento di queste immunodeficienze. Infine vengono date indicazioni pratiche di gestione quotidiana di questi bambini, contribuendo così a migliorare anche gli aspetti di presa in carico del bambino con IDP, con l'obiettivo finale di migliorarne la qualità di vita.

Alla stesura di questa Guida hanno partecipato pediatri esperti nel campo immunologico e pediatri generalisti. Ci auguriamo che il lavoro di sintesi tra le diverse realtà assistenziali sia stato efficace e riesca a rappresentare uno strumento pratico di consultazione per i pediatri nella vita ambulatoriale quotidiana.



Giovanni Corsello
Presidente SIP



Giuseppe Di Mauro
Presidente SIPPSS



Marzia Duse
Presidente SIAIP



Introduzione. La classificazione esemplificata delle immunodeficienze primitive

M. Duse

La storia delle immunodeficienze inizia nel 1952 con la prima descrizione di un caso di agammaglobulinemia X-recessiva da parte di Ogden Bruton, che ebbe anche il grande merito di sperimentare con successo le prime, pionieristiche forme di terapia sostitutiva con immunoglobuline per via intramuscolare.

Si deve arrivare, però, al 1971 - appena 45 anni fa - per ritrovare una prima classificazione delle immunodeficienze: contemplava non più di una ventina di malattie e, parenteticamente, alcune di queste oggi non esistono più, essendo confluite in altre categorie o semplicemente avendo scoperto che la loro patogenesi era diversa da quella inizialmente ipotizzata.

Oggi ci troviamo ad affrontare una classificazione delle immunodeficienze sempre più complessa con oltre trecento forme diverse; di gran parte di queste sono noti il meccanismo patogenetico e le basi molecolari e genetiche. Inoltre abbiamo anche osservato che il nostro vecchio “credo” - un gene, una malattia - non è assolutamente valido e che in verità la stessa malattia può avere caratterizzazioni genetiche differenti, ma anche che la stessa mutazione genica può dare quadri clinici differenti: un puzzle difficile da costruire e interpretare. Proprio a questo proposito Amos Etzioni ebbe a dire in un editoriale che sbagliavano profondamente coloro che profetizzavano l’inizio della fine della immunologia a seguito dei progressi della genetica e della identificazione di un sempre maggior numero di geni difettivi. Infatti, la crescita delle conoscenze genetiche segna proprio il contrario, ovvero la fine dell’inizio - incerto e pieno di false ipotesi - aprendo di fatto una nuova era per la immunologia clinica.

Le classificazioni vengono discusse, curate e revisionate ogni 2 anni da esperti internazionali che costituiscono la commissione della Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS/WHO), con diverse sottocommissioni internazionali che esplicitano o propongono variazioni o integrazioni. Il documento più recente è dello scorso anno.¹ Le tabelle riassuntive che listano e catalogano le diverse malattie tengono conto innanzitutto della patogenesi della malattia e delle componenti molecolari e cellulari coinvolte (B e T linfociti, polimorfonucleati [PMN] e componenti della risposta immune innata, sistema del complemento, strutture dell’inflammosoma, cellule regolatorie nonché recettori e citochine ad attività regolatoria, mediatori della tolleranza centrale e periferica). Nell’ambito poi di ciascuna di queste categorie “patogenetiche”, una ulteriore stratificazione viene operata sulla base, di volta in volta, di criteri clinici oppure di fenotipi immunologici oppure ancora di somiglianza genetica.

Leggere le tabelle di classificazione delle immunodeficienze scoraggia qualunque medico o pediatra non dedicato per la difficoltà di comprensione degli acronimi, dei geni e per la difficoltà a coniugare i difetti con quadri clinici ben definiti.



In verità queste classificazioni sono effettivamente utili al pediatra immunologo, meglio sarebbe dire immuno-deficientologo, per orientare la diagnostica più fine alla precisa definizione molecolare del difetto e questo con due finalità precise: studiare la possibilità di una terapia eziologica (terapia genica, per esempio) e studiare la famiglia al fine sia della pianificazione familiare che della diagnosi prenatale in caso di ulteriori eventuali gravidanze. Orientare la diagnostica fine però non è l'unico scopo.

Se prendiamo le tabelle e ne leggiamo il titolo, senza entrare nel merito del contenuto, già abbiamo una serie di indicazioni importanti di massima, ma se vogliamo entrare nel dettaglio, si trova la descrizione del difetto immunologico e genetico con sintetiche notazioni cliniche per ciascun fenotipo. Sono tutte nozioni estremamente utili e orientative che devono spingere il pediatra, nel sospetto, a praticare semplici esami di conferma avviando rapidamente il paziente a Centri immunologici pediatrici altamente specializzati per la diagnosi fine.

Non possiamo dimenticare che nutrire il sospetto clinico è addirittura più importante che la diagnosi precisa, ai fini del benessere dei nostri piccoli pazienti. In sintesi:

1 immunodeficienze combinate con alterazioni sia della immunità umorale che cellulare. Nella versione aggiornata la lista è lunga, occupa sei pagine a stampa e inclu-

de una sotto-classificazione per gravità (dalle più gravi, le SCID, alle meno gravi, le CID). Nelle SCID il rischio di infezioni fatali è altissimo e sono implicati virus, batteri, funghi e anche saprofiti, ma nelle forme meno espresse e meno gravi (le CID) la suscettibilità è generalmente ristretta a pochi patogeni o gruppi di patogeni. Autoimmunità e tumori possono complicare le forme meno gravi, compatibili con una più lunga sopravvivenza. Sempre presente la linfopenia. Spesso basta un emocromo per convalidare il sospetto.

- 2 Immunodeficienze combinate con sintomi associati o nel contesto di sindromi ben caratterizzate.** Nella versione integrale occupano 5 pagine a stampa. Vengono raggruppate per caratteristiche patogenetiche, cellulari o cliniche. In queste malattie prevale il difetto dei T linfociti (quindi predispone genericamente a infezioni da patogeni intracellulari, sviluppo di tumori e autoimmunità) ma sempre nel contesto di malattie sindromiche con caratteristiche cliniche molto varie ed eterogenee. Il primo sospetto dovrebbe essere clinico.
- 3 Difetti prevalentemente anticorpali.** Rappresentano certamente le forme di più frequente riscontro. La sotto classificazione è basata sul fenotipo immunologico (isotipi di immunoglobuline sieriche [Ig] carenti) e sono di primo acchito di più facile lettura. La clinica, di maggiore o minore gravità in funzione del difetto di uno o più isotipi, è comunque dominata dalle infezioni prevalentemente - ma non solo - da patogeni extracellulari. Il sospetto può essere facilmente convalidato dal dosaggio delle immunoglobuline. Ulteriori caratterizzazioni immunologiche (presenza o meno dei B linfociti, livelli di sottoclassi di Ig, titoli anticorpali specifici) dovrebbero essere effettuate da laboratori attrezzati.
- 4 Malattie da immuno-disregolazione.** Anche questo è un gruppo molto grande ed eterogeneo di malattie la cui lista occupa 4 pagine a stampa. In questo gruppo di malattie prevalgono per frequenza le linfocitopenie emofagocitiche caratterizzate dalla incapacità di spegnere l'infiammazione per massiva attivazione mastocitaria che può essere familiare o conseguente a infezioni virali (soprattutto a EBV). Sintomo dominante è la febbre non responsiva ad antipiretici e antiinfiammatori. Cruciale avviare i pazienti sospetti in Centri immunologici qualificati.
- 5 Difetti dei fagociti.** Possono essere difetti numerici o funzionali, metabolici o di espressione recettoriale per alterata differenziazione e maturazione dei PMN. Ogni malattia presenta una ampia gamma di varianti genetiche. Ne fanno parte le neutropenie congenite, i difetti funzionali di motilità o di adesione (LAD) per cui i PMN non arrivano nel sito di infezione (ascessi senza pus, necrosi) o di burst metabolico (CGD). In questi casi è di estrema importanza la lettura dell'emocromo.
- 6 Difetti della immunità intrinseca o innata.** Questo gruppo contempla una serie di immunodeficienze di recente identificazione e sulla base della quale J.L. Casanova ipotizzò di rivoluzionare la loro classificazione, a partire dalla eziologia delle infezioni dei pazienti con immunodeficienza primitiva, espressione della loro alterata rispo-

sta immune nei confronti solo di alcuni selezionati patogeni. Il sospetto è clinico (suscettibilità a un solo patogeno o gruppo di patogeni, la diagnostica molecolare di conferma viene eseguita solo in Centri altamente specializzati).

- 7 Malattie auto infiammatorie.** Anche questo gruppo di malattie è di recente identificazione e sono causate da difetti nella regolazione della infiammazione. L'elenco e la loro caratterizzazione sono ben specificati e la diagnosi differenziale tra le forme è principalmente clinica. Una buona anamnesi è indicativa, ma l'accertamento molecolare è indispensabile per la diagnosi definitiva, importante perché l'approccio terapeutico è diversificato.
- 8 Difetti del complemento.** Le alterazioni possibili riguardano ogni fattore o gruppo di fattori della cascata del complemento o dei fattori di regolazione. La sintomatologia è caratterizzata da segni e sintomi spesso sovrapponibili. Il dosaggio e lo studio funzionale dei singoli fattori, ad eccezione del C3 e del C4, viene eseguito in Centri altamente specializzati.

Bibliografia

1. Picard C., Al-Herz W. et al. Primary Immunodeficiency Diseases: an Update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee for Primary Immunodeficiency 2015. J Clin Immunol (2015) 35:696–726



I dubbi diagnostici del pediatra in ambulatorio

LE INFEZIONI RESPIRATORIE RICORRENTI E LE IMMUNODEFICIENZE PRIMITIVE

C. Capristo, S. Curto

Nei bambini le infezioni respiratorie ricorrenti (IRR) sono la più comune presentazione di esordio delle immunodeficienze primitive (IDP), soprattutto dei deficit dell'immunità umorale, che rappresentano circa il 70-75 % delle IDP. Le infezioni respiratorie e le complicanze rappresentano una significativa causa di morbilità nonché di mortalità tra i pazienti con IDP, tuttavia è importante sottolineare che le IRR rappresentano un quadro clinico frequente in età pediatrica, soprattutto in epoca pre-scolare, e un numero anche ragionevolmente elevato di infezioni respiratorie, ma di modesta gravità e a localizzazione prevalentemente alta, può essere considerato "fisiologico" e non merita ulteriori approfondimenti perché destinato a normalizzarsi verso i 6-7 anni di età. La sintomatologia respiratoria e le infezioni respiratorie rappresentano la motivazione più comune di richiesta di visita ambulatoriale e almeno nel 65% dei casi diagnosticati di IDP all'esordio della sintomatologia i genitori si rivolgono al pediatra di famiglia. È quindi compito del pediatra riconoscere quelli che devono essere interpretati come campanelli dall'allarme per distinguere il bimbo "sano" dal bambino che merita approfondimenti diagnostici, non dimenticando che altre condizioni morbose, anche gravi come la fibrosi cistica, possono avere presentazione simile. Il ritardo medio per la diagnosi di IDP dall'esordio della sintomatologia respiratoria è stimato in circa 1,9 anni; un corretto e tempestivo inquadramento diagnostico ha pertanto un significativo impatto in termini di morbilità e mortalità.

La premessa funzionale. L'*European Society for Immunodeficiencies* (ESID) indica le infezioni ricorrenti ENT (orecchio, naso, faringe) e delle vie aeree come la modalità di presentazione più comune delle IDP. Anche nel bambino sano, così come nell'adulto, le infezioni respiratorie sono comuni ma nella maggior parte si tratta di infezioni lievi-moderate. Circostanze particolari, come l'esposizione ad un agente patogeno virulento "non noto" al sistema immunitario o a carica elevata, possono provocare infezioni anche severe, ma in circostanze normali le difese dell'ospite sono protettive e sufficienti per mantenere la colonizzazione della flora microbica delle vie aeree sotto controllo. I meccanismi di difesa dell'ospite che eliminano o limitano la colonizzazione dei microrganismi patogeni penetrati nelle vie aeree includono barriere anatomiche e meccaniche, quali la clearance muco-ciliare ed il riflesso della tosse, e i meccanismi propri dell'immunità innata e adattiva; per quanto riguarda la componente "umorale" a giocare un ruolo fondamentale sono le IgA secretorie e le IgG sieriche. Fatta eccezione per il deficit selettivo di IgA e pochi altri, nei quali l'interessamento dell'apparato respiratorio può anche essere di lieve entità, l'evoluzione è generalmente progressiva. Nelle agamma-disgammaglobulinemie si può giungere a gravi alterazioni della

funzionalità respiratoria anche con sintomatologia clinica poco evidente.

Quando preoccuparsi. Le infezioni ENT recidivanti, otorree croniche, riniti purulente, broncopolmoniti recidivanti o le vere e proprie broncopneumopatie croniche accompagnano i deficit dell'immunità umorale, cellulare, aspecifica. Tuttavia, le infezioni respiratorie recidivanti sono comuni nell'infanzia e, in età inferiore ai 5 anni, i bambini immunocompetenti possono sperimentare 6-8 episodi di infezioni del tratto respiratorio all'anno e anche più, fino a 10-12 episodi/anno, se esposti al fumo o se frequentano comunità (ad es. scolastiche). Se ciascun episodio si risolve approssimativamente in 7-10 giorni, il bimbo può risultare "malato" veramente a lungo (da un quarto a metà di un anno).

Severe infection, Persistent infection and failure of expected recovery, Unusual organisms, Recurrent infection (noto con l'acronimo SPUR) sono le caratteristiche che devono indirizzare verso un approfondimento diagnostico nelle IRR. Le caratteristiche cliniche delle infezioni, suggestive di un difetto del sistema immunitario, possono essere: la maggiore severità rispetto all'ospite "sano", la natura ricorrente e/o cronica di infezioni sostenute dai comuni agenti patogeni che possono causare danno d'organo, come per esempio bronchiectasie o anomalie strutturali delle vie aeree (ispessimento delle pareti bronchiali e *air trapping*). Inoltre, i pazienti con IDP, pur rispondendo normalmente alla terapia antibiotica, spesso ricadono alla sospensione della terapia e le infezioni ripetute possono essere sostenute dallo stesso agente patogeno. Infine, l'immunocompetenza del paziente deve essere messa in discussione quando infezioni invasive sono causate da germi poco virulenti o opportunisti.

Dall'analisi delle principali Linee Guida europee e americane si possono individuare alcuni criteri che indicano il sospetto di IRR "patologiche":

- più di 4 episodi di otite in 12 mesi
- più di 2 episodi di sinusite batterica in un anno
- più di 2 episodi di polmonite in un anno
- infezioni inusuali per eziologia o severità
- infezioni ricorrenti sostenute da uno stesso patogeno
- bronchiectasie o altre complicanze
- trattamenti antibiotici protratti per inadeguata risposta alla terapia.

I sintomi clinici nei difetti umorali in genere tendono a comparire dopo i primi 6 mesi di vita (dopo la scomparsa delle IgG materne); tuttavia, le infezioni respiratorie possono occorrere più precocemente o, spesso, anche negli anni successivi.

Nei deficit umorali sono frequenti le infezioni sostenute da batteri capsulati (*Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*), nonché da batteri atipici e opportunisti.

Nelle IDP dominate da deficit della fagocitosi prevalgono le infezioni da Gram-negativi e da funghi, ma sono possibili infezioni da micobatteri atipici.

In caso di deficit del complemento prevalgono le infezioni da capsulati (*Neisseria sp.* e *Streptococcus sp.*).



Nelle immunodeficienze combinate possono essere coinvolti tutti i tipi di patogeni. Asma, allergie, ipertrofia adenoidea, reflusso gastro-esofageo, corpo estraneo inalato, fibrosi cistica, discinesia ciliare sono patologie frequenti che vanno tenute in conto nella diagnosi differenziale.

Le infezioni respiratorie ricorrenti come manifestazione clinica in specifiche IDP

Nella immunodeficienza comune variabile (CVID), polmonite, sinusite e otite media ricorrente sono comuni nella maggior parte dei pazienti. In un grande studio internazionale, che ha coinvolto più di 2200 pazienti CVID, la polmonite è stato il segno clinico più frequente. I pazienti con polmoniti avevano più bassi livelli minimi di IgG

rispetto ai pazienti senza polmoniti ricorrenti. Le infezioni minori del tratto respiratorio non controllate e ricorrenti, in questi pazienti di solito conducono a sequele croniche come alterazioni polmonari interstiziali o bronchiectasie. Molto frequente e grave la rinosinusite cronica, che, insieme alle altre complicanze infettive, ha un impatto negativo sulla qualità di vita dei pazienti.

Nella agammaglobulinemia X-linked, caratterizzata da difetto dello sviluppo dei linfociti B, la polmonite ricorrente è uno dei segni più frequenti, importanti e caratteristici. Le polmoniti sono in genere sostenute da batteri capsulati: *Streptococcus*, *Haemophilus influenzae* e *Staphylococcus sp.* Dal momento che sono carenti tutte le classi di immunoglobuline e, di conseguenza, non si ha produzione di anticorpi specifici dopo le vaccinazioni, possono verificarsi anche le infezioni prevenibili con i vaccini (per esempio, pertosse da *Bordetella pertussis*). Con la progressione del danno polmonare *Pseudomonas* e *Staphylococcus aureus* diventano più importanti e dominanti, ma anche il *Mycoplasma* può causare polmoniti recidivanti. Oltre ai batteri, questi pazienti hanno anche maggiore suscettibilità alle infezioni virali respiratorie che si sviluppano in forma più grave: per esempio, le infezioni da *Rhinovirus* sono frequenti e prolungate, ma anche quelle da virus *Varicella-zoster*, *Herpes simplex* e *Citomegalovirus* possono essere molto gravi.

Nella immunodeficienza combinata grave (SCID) vi è una predisposizione alle infezioni di tutti gli organi e apparati, ma soprattutto delle vie respiratorie e dell'intestino, causate da patogeni intra- ed extracellulari: soprattutto *P. jirovecii*, *Citomegalovirus*, *Adenovirus*, virus parainfluenzale tipo 3, virus respiratorio sinciziale, funghi e opportunisti. Le infezioni sono tipicamente gravi, prolungate e complicate.

Nella **sindrome legata all'X da immunodisregolazione-poliendocrinopatia-enteropatia (IPEX)** prevalgono invero i sintomi intestinali che simulano una celiachia, ma anche le infezioni respiratorie possono essere presenti e precoci. In genere sono causate da *S. aureus* e, meno frequentemente, da *Streptococcus pneumoniae* e *H. influenzae*. La ricorrenza è tipica e frequenti sono le complicanze, in particolare le bronchiectasie.

Nella IRR dove si sospetti una IDP che esami fare?

Di prima istanza:

- emocromo con formula;
- dosaggio immunoglobuline;
- indagini virologiche e batteriologiche.

Di seconda istanza:

- titoli anticorpali;
- dosaggio sottopopolazioni linfocitarie.

Bibliografia

- Bush A. Recurrent Respiratory Infections. *Pediatr Clin N Am* 2009;56:67-100.
- Gray PA et al. Recurrent infection in children: when and how to investigate for primary immunodeficiency? *J Paed Child Health* 2012;48:202.
- Jyothi S et al. Immune deficiencies in children: an overview. *Arch Dis Child Educ Pract Ed* 2013;98:186-96.
- Jesenak M et al. Pulmonary manifestations of primary immunodeficiency disorders in children. *Front Pediatr* 2014;2:77.
- Turvey SE et al. Primary immunodeficiency diseases: a practical guide for clinicians. *Postgrad Med J* 2009;85:660-6.
- Verma N et al. Lung disease in primary antibody deficiency. *Lancet Respir Med* 2015;3:651-60.
- Abolhassani H et al. Important differences in the diagnostic spectrum of primary immunodeficiency in adults versus children. *Expert Rev Clin Immunol* 2015;11(2):289-302.
- Bonilla FA et al. Practice parameter for the diagnosis and management of primary immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2015;136(5):1186-205.
- de Vries E, European Society for Immunodeficiencies (ESID) members. Patient-centred screening for primary immunodeficiency, a multi-stage diagnostic protocol designed for non-immunologists: 2011 update. *Clin Exp Immunol* 2011;167:108-19.
- Reust CE. Evaluation of primary immunodeficiency disease in children. *Am Fam Physician* 2013;87(11):773-8.
- Raju N et al. Overview of immunodeficiency disorders. *Immunol Allergy Clin N Am* 2015;35:599-623.
- McCusker C, Warrington R. Primary immunodeficiency. *Allergy Asthma Clin Immunol* 2011;7 Suppl 1:S11.

INFEZIONI IN ALTRE SEDI

M. Landi

Le infezioni ricorrenti, soprattutto quelle respiratorie (le polmoniti, le infezioni ai seni sinusali, le otiti), com'è stato detto, rappresentano certamente un campanello di allarme per sospettare un'immunodeficienza.

Tra le sedi extra polmonari, meritano particolare attenzione la cute, le infezioni a carico dell'osso e degli organi profondi.¹

La cute, infatti è un bersaglio frequente nelle immunodeficienze e i sintomi sono rappresentati da ascessi, dermatiti infettive, da manifestazioni eritrodermiche, atopiche o francamente psoriasiche con andamento cronico.²

La dermatite esfoliativa e l'eritrodermia, se presenti alla nascita, devono indurre immediatamente il sospetto diagnostico di sindrome di Omenn, una rara forma di immunodeficienza combinata grave caratterizzata, oltre che da dermatite esfoliativa ed eritrodermia, da infezioni ricorrenti ed eosinofilia.³

In alcune particolari immunodeficienze sono state descritte forme infiammatorie croniche cutanee come il *Pyoderma vegetans*⁴ o forme pseudotumorali da *Aspergillus*.⁵

Nella agammaglobulinemia X recessiva, gli *enterovirus*, e in particolare l'*Echovirus 11*, possono essere responsabili di gravi infezioni a carico del sistema nervoso centrale e del sistema neuromuscolare, con quadri di encefalomielite progressivamente invalidante che porta in genere a esito fatale. Fortunatamente questi quadri sono ormai molto rari, da quando la terapia sostitutiva con immunoglobuline per via ev o sc consente anche in questi pazienti il mantenimento di livelli pressoché normali di IgG.⁸ La

terapia sostitutiva ha altresì ridotto la frequenza anche di altre complicanze infettive, come le osteomieliti da candida⁶ e le artriti da *Ureaplasma urealyticum*.⁷

Nella malattia granulomatosa cronica, le infezioni interessano soprattutto la cute, l'osso (con possibili osteomieliti) e i linfonodi, con tendenza alla formazione di ascessi. I batteri più frequentemente in causa sono lo stafilococco, che causa linfadeniti, ascessi cutanei e osteomieliti, la *Serratia marcescens*, che è molto tipica della malattia, e i funghi, in particolare l'aspergillo.⁹

Bibliografia

1. Park MA, Li JT, Hagan JB, Maddox DE et al. Common variable immunodeficiency: a new look at an old disease. *Lancet*. 2008 Aug 9;372(9637):489-502.
2. Gualdi G, Lougaris V, Plebani A et al. Burden of Skin Disease in Selective IgA Deficiency And Common Variable Immunodeficiency. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2015;25(5):369-71.
3. Katugampola RP, Morgan P, Khetan R et al. Omenn's syndrome: lessons from a red baby. *Clinical and Experimental Dermatology* 2008; 33: 425-428.
4. Mansouri M, Rakhshan A, Shahidi-Dadras M et al. Pyoderma Vegetans: A Case Report in a Child Suspected to Primary Immunodeficiency and Review of the Literature. *Iran J Med Sci*. 2015 Jul;40(4):381-5.
5. Khemiri M, El fekih N, Borgi A et al. Pseudotumoral cutaneous aspergillosis in chronic granulomatous disease, report of a pediatric case. *Am J Dermatopathol*. 2012 Oct;34(7):749-52.
6. Pan N, Herzog R, Blanco JS et al. *Candida albicans* osteomyelitis in an infant: a case report and literature review. *J Pediatr Orthop B*. 2013 Sep;22(5):491-7.
7. Furr PM, Taylor-Robinson D, Webster AD. Mycoplasmas and ureaplasmas in patients with hypogammaglobulinaemia and their role in arthritis: microbiological observations over twenty years. *Ann Rheum Dis*. 1994 Mar;53(3):183-7.
8. Halliday E, Winkelstein J, Webster AD. Enteroviral infections in primary immunodeficiency (PID): a survey of morbidity and mortality. *J Infect*. 2003 Jan;46(1):1-8.
9. <https://primaryimmune.org/product/idf-patient-family-handbook-for-primary-immunodeficiency-diseases-5th-edition/>

RITARDO DI CRESCITA E APPROCCIO NUTRIZIONALE NELLE IMMUNODEFICIENZE PRIMITIVE

V.L. Miniello, E. Verduci

Nel corso degli ultimi anni le recenti tecniche diagnostiche molecolari hanno permesso l'identificazione di nuovi fenotipi di immunodeficienze. I quadri clinici di presentazione delle immunodeficienze primitive (IDP) si sono ampiamente diversificati, includendo, tra l'altro, diverse forme ad esordio tardivo e con fenotipo clinico 'mild'.

La mancata crescita o il ritardo di crescita sono sintomi frequentissimi presenti, si può dire, in tutte le IDP. Almeno in parte e per alcune, sono riconducibili all'aumentata suscettibilità a contrarre infezioni (sostenute da germi opportunistici o da un singolo agente) ricorrenti, persistenti e tendenti alla cronicizzazione. Il corredo sintomatologico è molto variegato a seconda del tipo di immunodeficienza e può comprendere anche

diarrea cronica, granulomi, ascessi di organo e cutanei. Inoltre, il ritardo di crescita è sintomo cardine di un particolare gruppo di immunodeficienze, le IDP associate a sindromi, classificate dall'*International Union of Immunological Societies* quali "altre sindromi con immunodeficienza ben caratterizzate" in cui il coinvolgimento del sistema immunitario e di altri organi o apparati comporta espressioni pleomorfe quali dimorfismi facciali, microcefalia, ritardo mentale, manifestazioni a carico di cute e annessi e, caratteristicamente, ritardo di crescita.

Ritardo di crescita

Il **ritardo di crescita**, conosciuto in Letteratura con il termine anglosassone "*failure to thrive*" (FTT) costituisce uno dei 10 segni di sospetto delle IDP.

Il ritardo di crescita non è una diagnosi, ma una condizione clinica che indica un lattante od un bambino in cui il peso o la velocità di crescita risultino significativamente al di sotto dell'atteso, quando riferiti ad altri individui di pari età, sesso ed etnia. Benché si possa riscontrare in tutte le fasi dell'età evolutiva, risulta più frequente nella prima infanzia: l'80% del deficit di crescita viene registrato nei primi 18 mesi di vita.

Non vi sono dati definitivi sulla prevalenza nella popolazione generale. La maggior parte degli studi sono stati eseguiti con indagini retrospettive su soggetti ospedalizzati. Più attendibili appaiono gli studi prospettici ALSPAC (*Avon Longitudinal Study of Parents and Children*), in cui sono stati arruolati 11.900 lattanti sani nati a termine, e il *Copenhagen Child Cohort*, con 6090 bambini nati nel 2000.

La prevalenza del FTT dipende dalla definizione adottata e dal setting analizzato.

Negli Stati Uniti il deficit di crescita è stato riscontrato nel 3-5% di bambini ospedalizzati e nel 5-10% dei soggetti in setting di cure primarie.

Nei primi mesi di vita, caratterizzati da una velocità di accrescimento ragguardevole, il peso costituisce il primo parametro di riferimento in quanto aumenta in maniera consistente e regolare. Pertanto, ogni arresto o flessione della sua curva sono facilmente e prontamente riconosciuti. I bambini geneticamente piccoli presentano curve di crescita parallele al limite inferiore.

È bene ricordare che circa il 3% di bambini normali, con lunghezza e circonferenza cranica costantemente nella norma, hanno un peso inferiore al 5° percentile, ma sempre parallelo ad esso.

L'esordio post-natale di un problema di crescita si manifesta con un andamento verso il basso della curva precedentemente stabile.

Non vi è consenso sui criteri antropometrici da adottare per poter porre diagnosi di FTT, benché ne siano stati proposti diversi (Tabella 1).



Tabella 1. Criteri antropometrici per diagnosi di FTT

Peso per età < 5° centile

BMI per età < 5° centile

Altezza per età < 5° centile

Decelerazione del peso che attraversi più di 2 centili maggiori (5°, 10°, 25°, 50°, 75°, 90°)

Incremento del peso (mensile) < 5° centile

Peso < 75% del 50° centile sulla curva peso per età (Criterio di Gomez)

Peso < 80% del 50° centile sulla curva peso per altezza (Criterio di Waterlow)

Il difetto di crescita non organico presenta un'incidenza di circa il 50-58% sul totale dei casi. Ciononostante *“in più dell'80% dei casi non è mai identificata una chiara condizione medica”*. Un recente studio prospettico realizzato in una clinica gastroenterologica pediatrica ha dimostrato che *“nella maggioranza dei bambini il FTT ha un'etiologia non organica”*.

Nonostante il FTT da cause organiche abbia una bassa prevalenza, è importante che il pediatra possa sospettarne le probabili patologie di base, soprattutto in presenza di *red flags* (Tabella 2).

Tabella 2. Cause organiche di FTT

Cardiache

- Cardiopatie cianogene

Respiratorie

- Fibrosi cistica
- Bronchiectasia

Infettive

- Infezione perinatale
- TBC
- HIV

Immunologiche

- Immunodeficienza primitiva
- Immunodeficienze acquisite

Neurologiche

- Paralisi cerebrale infantile

Urinarie

- IVU
- Acidosi tubulare

Endocrine

- Diabete
- Iperteroidismo

Neoplastiche

Metaboliche/Genetiche

- Sidrome feto-alcolica
- Anemia falciforme

Gastro-intestinali

- Malattia da reflusso gastro-esofageo
 - Celiachia
 - Fibrosi cistica
-

Per il FTT sostenuto da cause organiche risultano cruciali particolari segni e sintomi (Tabella 3).

Tabella 3. Segni e sintomi che suggeriscono cause organiche di FTT

Distrofia
Obiettività cutanea (disidratazione, pallore, ittero, linfadenomegalia)
Dismorfismi (microcefalia, facies dismorfica, attaccatura dei capelli, attaccatura bassa delle orecchie, ipertelorismo, cubito valgo, dita corte, alterazione dei genitali)
Peso o velocità di crescita significativamente al di sotto dell'atteso , nonostante un adeguato intake calorico
Obiettività addominale (addome globoso, diastasi dei muscoli retti addominali, epato-splenomegalia)
Infezioni ricorrenti e severe (respiratorie, urinarie e muco-cutanee)
Riscontri cardiaci suggestivi per cardiopatie congenite (soffio, edema, ectasia delle vene giugulari)
Vomito ricorrente, diarrea cronica

Risulta essenziale eseguire un esame clinico completo, non trascurando che le misurazioni devono essere effettuate con strumenti adatti, nelle modalità corrette e che i valori ottenuti siano confrontati con quelli della popolazione di riferimento mediante curve di crescita aggiornate.

Ritardo di crescita nelle IDP

Il ritardo di crescita è caratteristicamente presente:

- nella immunodeficienza combinata grave (**SCID**, *Severe Combined Immune Deficiency*). I pazienti presentano nei primi giorni/mesi di vita ritardo di crescita, diarrea cronica (*Rotavirus*, *Adenovirus*, *Picornavirus*, *Coxsackievirus*) ed infezioni opportunistiche (manifestazioni severe di candidiasi orale e di infezioni respiratorie ad esordio precoce);
- Nella SCID da deficit della catena gamma, nota come **SCID-X1** che è la forma più comune in Europa. Colpisce i maschi e rappresenta circa il 50% dei casi di SCID. La SCID-X1 esordisce nei primi mesi di vita con ritardo della crescita, diarrea cronica e gravi infezioni virali, batteriche o micotiche (*Pneumocystis jiroveci pneumonia*);
- nel **deficit di ZAP 70**, forma autosomica recessiva di SCID che si presenta con carenza di linfociti T CD8+ e normali linfociti T CD4+. Analogamente, esordisce precocemente con diarrea cronica, ritardo della crescita, gravi infezioni polmonari spesso sostenute da patogeni opportunisti (*Pneumocystis carinii*) e candidiasi persistenti;

- nella **sindrome IPEX** (sindrome da immunodisregolazione, poliendocrinopatia, enteropatia, X-linked), grave malattia autoimmune sistemica congenita che esordisce precocemente. È caratterizzata da diarrea cronica refrattaria, secondaria a flogosi autoimmune dell'intestino tenue, endocrinopatie (diabete di tipo 1, tireopatia), interessamento della cute e citopenia autoimmune. Il ritardo di crescita è riconducibile a malassorbimento dei nutrienti;
- nella **discheratosi congenita**, rara malattia multisistemica caratterizzata dalla triade anomalie della pigmentazione cutanea, distrofia ungueale e leucoplachia delle mucose. La forma infantile severa (sindrome di Hoyeraal-Hreidarsson) si presenta con ritardo di crescita intrauterino, ritardo di crescita postnatale, ipoplasia cerebellare e immunodeficienza combinata.

Nelle IDP la patogenesi del ritardo di crescita deve essere essenzialmente ricondotta alle gravi infezioni ricorrenti che portano a minore assunzione orale di alimenti, malassorbimento dei nutrienti e incremento della spesa energetica. In realtà il trattamento delle infezioni e l'aumento dell'apporto calorico non sempre comportano il recupero ponderale. Un recente studio ha dimostrato che nei bambini affetti da SCID c'è anche un aumentato metabolismo a riposo che può rendere necessario un supporto nutrizionale intensivo.

Valutazione dello stato nutrizionale ed interventi dietetici

Una dieta corretta fornisce al bambino tutti i nutrienti necessari per la crescita e lo sviluppo. Questo vale per il bambino sano ed è particolarmente importante nel bambino con immunodeficienza primitiva, nel quale la malnutrizione può aumentare il rischio di complicanze tra cui le stesse infezioni che sono causa di malnutrizione, instaurandosi, così, un circolo vizioso.

La valutazione dello stato nutrizionale del soggetto dovrebbe seguire un percorso diagnostico che prevede una serie di step successivi così come mostrati in Tabella 4.

Tabella 4. I cinque step nella valutazione completa dello stato nutrizionale

1. **Anamnesi nutrizionale dettagliata**
2. **Valutazione della crescita e misurazione dei parametri antropometrici**
3. **Registrazione dell'intake nutrizionale e diagnostica nutrizionale**
4. **Eventuale intervento nutrizionale**
5. **Adeguate follow-up**

La raccolta di una anamnesi nutrizionale mirata e dettagliata risulta essenziale al fine di una corretta valutazione. Le informazioni che devono essere ottenute sono riassunte in Tabella 5.

Tabella 5. Anamnesi nutrizionale

- Modalità di allattamento durante il primo anno di vita
- Et  di introduzione dei solidi e timing di introduzione dei vari alimenti
- Eventuali reazioni avverse dopo assunzione di nuovi alimenti
- Utilizzo di acque oligominerali e bevande gasate e/o zuccherate (tipologia e quantit )
- Utilizzo di formule speciali e quantit  assunta durante la giornata
- Eventuale assunzione di integratori vitaminici e/o minerali e dosi
- Eventuali difficolt  nella masticazione e nella deglutizione
- Avversione verso determinati alimenti
- Preferenze verso determinati cibi
- Composizione di un pasto tipico
- Numero di pasti giornalieri e distribuzione nel corso della giornata

Cosa deve sapere e saper fare il pediatra

La rilevazione degli indici antropometrici rappresenta lo step pi  importante della valutazione nutrizionale, poich  la crescita   un indicatore sensibile di un adeguato intake calorico e proteico.

I valori rilevati di peso, lunghezza/altezza, circonferenza cranica e l'indice di massa corporea (BMI, *Body Mass Index*), registrati nelle visite, devono essere riportati sulle curve di crescita della OMS/WHO, che rappresentano lo standard di riferimento. Le curve di crescita WHO sono riportate sia sotto forma di percentili che di z-score: nel primo caso il range di normalit    tra il 2° ed il 98° percentile che corrisponde a -2 DS (deviazioni standard) e +2 DS. Sono disponibili anche curve di riferimento per il BMI.

In generale, bambini il cui peso, lunghezza o altezza siano inferiori a -2 DS sono a rischio nutrizionale e meritano pertanto un approfondimento diagnostico.

Generalmente esiste un gap temporale tra il rallentamento della curva di crescita ponderale e quella della crescita in lunghezza/altezza e ci  ha un importante significato fisiologico: qualunque sia la causa del deficit relativo o assoluto dell'intake calorico-proteico, l'organismo reagisce inizialmente utilizzando la massa grassa, il che si riflette nella perdita di peso (*wasting*); se il deficit nutrizionale persiste nel tempo, allora si assiste a un rallentamento della velocit  di crescita (*stunting*) dovuto alla riduzione della massa magra, ovvero della massa attiva dal punto di vista metabolico. Il rallentamento della velocit  di crescita   l'indicatore pi  sensibile di rischio nutrizionale e della necessit  di valutazione dell'intake nutrizionale. In contrasto, l'intervento nutrizionale si riflette in un "*catch up*" della velocit  di crescita, che   l'indicatore pi  sensibile per monitorarne l'efficacia.

Tra gli indici nutrizionali nel bambino di et  <24 mesi appare importante il rapporto peso/lunghezza (P/L) nell'individuazione di un quadro di malnutrizione acuta, rispetto

ad un quadro cronico in cui è coinvolta anche la crescita staturale (rapporto lunghezza/età: L/E).

Utilizzando le curve di crescita WHO, la malnutrizione viene classificata in:

- malnutrizione acuta moderata: < -2 DS (P/L)
- malnutrizione acuta severa: < -3 DS (P/L)
- malnutrizione cronica severa: < -3 DS L/E (L per età).

Lo stato di magrezza deve essere invece valutato attraverso l'utilizzo del BMI nel bambino di età >24 mesi. In particolare modo, secondo le curve di riferimento per il BMI del WHO, in presenza di BMI < -2 DS si parla di magrezza, mentre per valori di BMI < -3 DS si parla di magrezza severa.

Puntis ha proposto dei criteri per l'intervento nutrizionale in base ai valori antropometrici integrati con la storia clinica essenziale (Tabella 6). È possibile differenziare tali interventi in una prima rilevazione da effettuarsi anche presso l'ambulatorio del pediatra ed in un secondo step, qualora questi lo ritenga necessario, eseguito in Centro specialistico.

Tabella 6.

PARAMETRI DI PRIMO LIVELLO RILEVABILI IN AMBULATORIO DEL PEDIATRA

- Crescita o incremento ponderale inadeguato per più di 1 mese in un bambino di età < 2 anni
- Perdita di peso o assenza di incremento ponderale per un periodo > 3 mesi in un bambino di età > 2 anni
- Declino della velocità di crescita > 2 cm/anno, rispetto all'anno precedente, nella fase precoce della pubertà e al centro della stessa
- Declino del peso per l'età di 2 percentili
- Declino della velocità di crescita $> 0,3$ DS/anno

PARAMETRI RILEVABILI DI SECONDO LIVELLO

- Plica tricipitale $< 5^{\circ}$ percentile per l'età
- Declino della velocità di crescita $> 0,3$ DS/anno

La velocità di crescita è l'indicatore più sensibile nell'identificare precocemente un deficit nutrizionale

La stima dell'apporto di nutrienti introdotto può essere effettuata mediante l'impiego del questionario delle frequenze alimentari (FFQ), consistente in una intervista in cui si chiede ai familiari del bambino di ricordare e di trascrivere tutte le bevande e gli alimenti assunti abitualmente dal bambino, individuando la porzione per confronto con sagome e stoviglie a volume noto.

L'FFQ, tuttavia, è uno strumento poco preciso poiché fornisce informazioni di tipo semi-quantitativo. Il **diario alimentare**, invece, consiste nella registrazione scritta della quantità e del tipo di alimenti e bevande assunte dal bambino in tre giorni o, meglio, sette consecutivi. Quest'ultimo rappresenta lo strumento più accurato perché fornisce informazioni di tipo quantitativo. Quindi in casi di crescita in difetto si deve preferire l'utilizzo di quest'ultimo strumento nutrizionale.

I risultati ottenuti dalla scomposizione del diario alimentare andranno poi confrontati con le assunzioni raccomandate per la popolazione pediatrica.

Per completare la valutazione nutrizionale, di fronte ad un sospetto reale di malnutrizione è opportuno eseguire alcune indagini di laboratorio, con rilevazione degli indici nutrizionali, con particolare attenzione per gli indici del metabolismo proteico (Tabella 7).

La misurazione delle proteine totali ha un valore limitato, è preferibile l'utilizzo del dosaggio di proteine plasmatiche con breve emivita, indicatori relativamente più sensibili della sintesi e del catabolismo proteico. Ove possibile, possono essere utilizzate indagini strumentali accurate per la valutazione della composizione corporea, tra cui la densitometria assiale a raggi X (DEXA), di provata efficacia.

Tabella 7. Indici nutrizionali

- | |
|---|
| - Emocromo |
| - Elettroliti |
| - Azotemia, creatinina |
| - Profilo lipidico (colesterolo totale, HDL, LDL, trigliceridi) |
| - Profilo proteico (elettroforesi proteica, aminoacidemia, pre-albumina, <i>Retinol Binding Protein [RBP]</i>) |
| - C4 |
| - Stato marziale (sideremia, ferritinemia, transferrinemia) |
| - Dosaggio plasmatico di fattori nutrizionali specifici (per es. vitamine, zinco) |



Nella Tabella 8 sono illustrate le principali proteine plasmatiche impiegate come parametri nutrizionali.

Tabella 8. Principali proteine plasmatiche impiegate come parametri nutrizionali

PROTEINE PLASMATICHE	VOLUME DI DISTRIBUZIONE ED EMIVITA	LIVELLI PLASMATICI
Albumina	Volume di distribuzione: grande - Emivita: 15-20 giorni	36-45 g/l - Alla nascita: 80% dei valori dell'adulto
Prealbumina (legante la tirosina)	Volume di distribuzione: piccolo - Emivita: 2-3 giorni	0,32-0,35 g/l - Alla nascita: 80% dei valori dell'adulto
Retinol-binding protein (RBP)	Volume di distribuzione: piccolo - Emivita: 12 ore	60 ± 16 mg/l - 0-10 anni, 60% dei valori dell'adulto
Transferrina	Volume di distribuzione: piccolo - Emivita: 8 giorni	2-4 g/l (dipendente dall'età - Ampio range di variabilità nei livelli plasmatici)

Il pediatra deve conoscere le abitudini alimentari del bambino con immunodeficienza associata a problematiche di crescita, saper riconoscere quando è necessaria una valutazione dell'intake nutrizionale ed inviare il bambino presso un Centro con specialisti della nutrizione per un eventuale intervento dietetico corretto ed un adeguato follow-up. In assenza di scarso accrescimento o patologie associate (diabete, celiachia) il bambino con IDP non necessita di diete speciali ma di un regime alimentare appropriato per età. Solo in caso di patologie acute sono necessari aggiustamenti dietetici ed uno stretto controllo del peso.

Bibliografia

1. Parvaneh N, Casanova JL, Notarangelo LD et al. Primary immunodeficiencies: a rapidly evolving story. *J Allergy Clin Immunol*. 2013;131:314-24.
2. Olsen EM, Petersen J, Skovgaard AM, et al. Failure to thrive: the prevalence and concurrence of anthropometric criteria in a general infant population. *Arch Dis Child*. 2007; 92: 109-114.
3. Olsen EM. Failure to thrive: still a problem of definition. *Clin Pediatr (Phila)*. 2006; 45: 1-6.
4. Stephens MB, Gentry BC, Michener MD, et al. What is the clinical workup for failure to thrive? *J Fam Pract*. 2008; 57: 264-6.
5. Bergman P, Graham J. An approach to "failure to thrive". *Aust Fam Physician*. 2005;34: 725-9.
6. Hendaus M, Al-Hammadi A. Failure to thrive in infants. *Georgian Med News*. 2013; 214: 48-54.
7. Barron MA, Makhija M, Hagen LE, et al. Increased resting energy expenditure is associated with failure to thrive in infants with severe combined immunodeficiency. *J Pediatr*. 2011;159: 628-32.
8. World Health organization. The WHO Child Growth Standards. www.who.int/childgrowth/standard
9. WHO Multicentre Growth Reference Study Group. WHO Child Growth Standards based on length/height, weight and age. *Acta Paediatr*. 2006; 450: S76-85.
10. Ashworth A, Millward DJ. Catch-up growth in children. *Utr Rev*. 1986; 44: 157-63.
11. Puntis JW. Malnutrition and Growth. *JPGN* 2010; 51: S125-26.
12. Immune Deficiency Foundation. *Patient & Family Handbook for Primary Immunodeficiency Diseases*. 2013. 5th Edition

AUTOIMMUNITÀ

M. Fiore

I pazienti affetti da immunodeficienza primitiva spesso soffrono anche di sintomi autoimmuni e le malattie autoimmuni hanno alla base difetti immunologici in gran parte noti per cui rientrano a pieno titolo tra le immunodeficienze¹. Autoimmunità (e tumori) da un lato e infezioni dall'altro si trovano ai poli opposti di un ampio spettro di manifestazioni cliniche che interessano i pazienti con IDP quasi in modo inversamente proporzionale: quanto maggiore è la componente infettiva (susceptibilità alle infezioni) tanto minore - o più tardiva - è la componente autoimmune, per cui possiamo trovare IDP senza autoimmunità - né all'esordio, né come complicanza - e malattie autoimmuni senza alcuna susceptibilità a contrarre infezioni di sorta. La autoimmunità è caratterizzata dalla comparsa di cloni cellulari autoreattivi e questo può verificarsi per alterazioni sia dei complessi meccanismi che modulano la tolleranza centrale (timica, dei T linfociti) sia per alterazione dei molteplici meccanismi regolatori periferici, che coinvolgono i T regolatori, i B regolatori, molte interleuchine e citochine di diversa origine. L'apporto della genetica con la conoscenza di geni che codificano per la selezione del repertorio di linfociti "utili" con eliminazione degli autoreattivi (mediante il fenomeno della apoptosi) ci consente oggi di poter far diagnosi molecolare di molte di queste immunodeficienze. Quanto ai meccanismi di regolazione periferica, sono molto complessi e ridondanti (a garanzia che non si sviluppi autoimmunità): di qui la difficoltà di trovare momenti patogenetici (o geni) comuni. Ogni via può essere alterata e l'esito finale è comunque la reazione autoimmune. Solo alcuni meccanismi patogenetici sono ben conosciuti e, di nuovo, attraverso la genetica e l'identificazione di mutazioni dei geni dei T regolatori, sappiamo comprenderne almeno in parte, e per alcune IDP, il funzionamento.²

La clinica

Molte sindromi da immunodeficienza primitiva hanno nel loro corredo sintomatologico manifestazioni di autoimmunità; le principali sono: APECED o APS-1 (Poliendocrinopatia autoimmune; Candidosi; Displasia ectodermica); la ALPS (Sindrome linfoproliferativa autoimmune); la IPEX (sindrome X-linked, disregolazione immunitaria; Poliendocrinopatia, Enteropatia). Altre IDP sono, invece, associate a quadri di complicanze o di screzi autoimmuni (sierologia positiva per autoimmunità senza manifestazioni cliniche di malattia vera e propria); le principali sono: Immunodeficienza Comune Variabile (CVID), la sindrome di Wiskott-Aldrich (WAS), la sindrome di Good, la sindrome da Iper-IgM, la Linfopenia T-cellulare idiopatica (ICL) ed i Difetti del Complemento.⁵ Nella Tabella 1 sono riportati i sintomi/segni/quadri clinici di autoimmunità più frequenti nelle IDP.

Tabella 1. Sintomi da autoimmunità associati alle IDP

MANIFESTAZIONI AUTOIMMUNI	IMMUNODEFICIENZA PRIMITIVA
Pancitopenia (anemia, piastrinopenia, neutropenia)	ALPS, CVID, MHC II def
Anemia	WAS
Vasculite	WAS, LAD
LES o LES-like	CGD, LAD
Colangite Sclerosante	MHC II def, Deficit CD40 L
Artrite	WAS, CVID
Fenomeni autoimmuni poliorgano (ghiandole paratiroidi, corteccia surrenalica, gonadi, cellule β pancreatiche e cellule gastriche parietali)	APECED
Fenomeni autoimmuni poliorgano (pancreas - diabete di tipo I ad esordio neonatale -, intestino, pancitopenie, colangite, ecc.)	IPEX

Un discorso a parte merita il Deficit Selettivo di IgA (IgA-D). È la forma di immunodeficienza più frequente, la cui frequenza si attesta intorno a 1:500-1:700 a seconda delle casistiche prese in considerazione.⁶ Il IgA-D è una entità clinica variegata che è caratterizzata da quadri che vanno dalla completa assenza di sintomi clinici a quadri molto complessi compresi quelli associati a fenomeni autoimmuni e tumori.^{6,7} Nel 30-40% dei soggetti con IgA-D sono presenti autoanticorpi, ed è stato dimostrato in molti studi che il Deficit Selettivo di IgA è collegato a specifici polimorfismi degli antigeni di Classe II del Complesso Maggiore di Istocompatibilità.^{7,8} In alcuni casi la presenza di autoanticorpi (e di aplotipi HLA) non si accompagna a patologie autoimmuni, mentre in altri casi l'IgA-D è associato a patologie autoimmuni quali Artite Idiopatica Giovanile, IDDM1, Celiachia, LES e, più raramente, ad altre condizioni autoimmuni quali tiroiditi, anemia, epatite, comunque con una frequenza maggiore rispetto alla popolazione generale.⁶

Gli aspetti autoimmunitari delle sindromi autoinfiammatorie sono discussi in altro capitolo di questa Guida.

Approccio clinico e terapeutico nell'ambulatorio del pediatra

- I pazienti affetti da Difetto Selettivo di IgA, anche i pauci- o nullo-sintomatici, vanno seguiti con un follow-up costante nel tempo che prevede l'esecuzione di indagini per autoimmunità.
- La Immunodeficienza Comune Variabile è, insieme all'IgA-D, la IDP che più frequentemente presenta sintomi e/o complicanze autoimmuni. Il follow-up deve prevedere l'esecuzione di indagini per autoimmunità.

- Pensare sempre a una IDP quando ci sono sintomi da autoimmunità.
- Il follow-up delle patologie autoimmuni in corso di IDP è quello descritto nelle Linee Guida (o nei protocolli nazionali/internazionali) relativi alla singola patologia.
- Il trattamento dei sintomi e/o delle patologie autoimmuni in corso di IDP deve seguire le Linee Guida corrispondenti. Tuttavia, il trattamento può richiedere ulteriori interventi che vanno differenziati in considerazione della espressività e della gravità clinica delle manifestazioni.

Spesso il trattamento di fondo della IDP (terapia genica, trapianto di cellule staminali) in caso di successo risolve anche i sintomi autoimmuni.

Bibliografia

1. Arason GJ, Jorgensen GH, Ludviksson BR. Primary Immunodeficiency and Autoimmunity: Lessons From Human Diseases. *Scandinavian Journal of Immunology* 2010; 71 (5), 317-28.
2. Meyer-Bahlburg A. Primäre Immundefekte und Autoimmunität. *Rheumatologische Manifestationen bei pädiatrischen Patienten mit primären Immundefekten. Arthritis + Rheuma* 2014; 34: 169-74.
3. Bacchetta R, Notarangelo LD. Immunodeficiency with autoimmunity: beyond the paradox. *Front Immunol* 2013; 4: 77.
4. Arkwright PD, Abinun M, Cant AJ. Autoimmunity in human primary immunodeficiency diseases. *Blood* 2002; 99(8): 2694-792.
5. Immune Deficit Foundation (IDF). Autoimmunity. <http://primaryimmune.org/about-primary-immunodeficiencies/relevant-info/autoimmunity/>
6. Duse M, Notarangelo LD. Immunodeficienze primitive – Deficit Selettivo di IgA in Collana di Patologia Pediatrica – Plebani A. *Immunologia Pediatrica* (2^a Ed). 1998 McGraw – Hill Libri Italia srl.
7. Fiore M et al. DNA typing of DQ and DR alleles in IgA deficient subjects. *Eur J Immunol* 1995; 22: 403-11.
8. Machulla HKG et al. HLA-A, B, Cw and DRB1, DRB3/4/5, DQB1, DPB1 Frequencies in German Immunoglobulin A-Deficient Individuals. *Scand J Immunol* 2000; 52: 207-11.

LE FEBBRI PERIODICHE/LE SINDROMI AUTO-INTIAMMATORIE

M. Fiore, B. Cinicola

La febbre è una condizione determinata dalla elevazione della temperatura centrale che generalmente è parte di una risposta difensiva nei confronti di microrganismi. È uno dei più comuni sintomi che si manifestano nei primi anni di vita, rappresenta un motivo di allarme e preoccupazione per i genitori ed è la causa più frequente, in età pediatrica, di accesso al pronto soccorso; infatti, circa il 50% dei bambini giungono al pronto soccorso per il problema “febbre”. Solo quando la febbre dura da almeno tre settimane con esame clinico, di laboratorio e strumentale non orientativi, può essere considerata di origine sconosciuta (FUO). Se si presenta in maniera ricorrente ed è associata a sintomi infiammatori sistemici di natura articolare, gastrointestinale e/o muco-cutanea, si può ipotizzare allora una febbre periodica di natura non infettiva.

In ogni caso, quando il pediatra si trova di fronte a un bambino il cui **unico segno** è la

febbre persistente (che dura più giorni) o ricorrente (che quindi ha una cadenza periodica a intervalli più o meno regolari), deve richiedere degli approfondimenti diagnostici.

Le febbri periodiche “classiche” fanno parte delle cosiddette malattie (o sindromi) auto-infiammatorie. Dal punto di vista eziopatogenetico si distinguono dalle patologie autoimmuni in quanto non si riscontrano autoanticorpi o linfociti T autoreattivi, e sono causate da alterazioni della regolazione della infiammazione, per cui rientrano nell’ambito dei difetti dell’immunità innata.¹

Le febbri periodiche sono caratterizzate da episodi accessuali febbrili cui si accompagnano sintomi di natura articolare, gastrointestinale e mucoso-cutanea. Comprendono:

- **sindromi ereditarie**, a eziologia genetica nota, tra cui le principali sono la febbre mediterranea familiare (FMF), la sindrome da difetto di mevalonato-chinasi (MKD, nota anche come sindrome da Iper-IgD), la sindrome periodica associata al recettore del TNF (TRAPS), le sindromi periodiche associate alle criopirine (CAPS).² Un elenco parziale delle febbri periodiche ereditarie, con le loro caratteristiche genetiche, è mostrato in Tabella 1;

Tabella 1. Febbri periodiche ereditarie

PATOLOGIA	GENE	CROMOSOMA	PROTEINA	EREDITÀ
FMF	MEFV	16p 13	pirina	AR
Iper IgD	MVK	12q 24	mevalonato chinasi	AR
TRAPS	TNFRSF 1A	12p 13	Rec 1 del TNF	AD
FCU/FCAS	CIAS1/NALP3/ PYPAF1	1q 44	criopirina	AD
MWS	CIAS1/NALP3	1q 44	criopirina	AD
CINCA/NOMID	CIAS1/NALP3/ PYPAF1	1q 44	criopirina	AD

Mod. da M. Gattorno et al. Rivista Gaslini 2009; 41(1): 5

FMF: febbre mediterranea familiare. TRAPS: sindrome periodica associata al recettore 1 del fattore di necrosi tumorale. FCU: orticaria cronica familiare da freddo; FCAS: sindrome auto-infiammatoria familiare da freddo. MWS: sindrome di Muckle-Wells. CINCA: sindrome cronica infantile neurologica, cutanea e articolare

- **sindromi non ereditarie**, tra cui la più importante è la **PFAPA** (febbre periodica, stomatite aftosa, faringite e adenite cervicale), la cui esatta patogenesi è incerta. È la febbre periodica più comune in età pediatrica, anche se la sua prevalenza non è nota. Esordisce in genere sotto i 5 anni con febbre della durata di 3-6 giorni che si presenta con cadenza periodica a intervalli regolari e almeno uno dei tre segni clinici caratterizzanti la malattia: faringite, adenite cervicale, aftosi orale, in assenza di infezioni respiratorie. Inoltre, il paziente non presenta deficit di crescita ed è asintomatico durante i periodi intercritici.⁶ Nella Tabella 2 sono elencati i principali criteri diagnostici.⁸

Il meccanismo fisio-patogenetico della PFAPA è ancora sconosciuto, anche se si so-

spetta una disfunzione del sistema delle citochine pro-infiammatorie.⁹ Spesso i pazienti affetti da PFAPA hanno una storia familiare positiva per febbri periodiche, ma le basi genetiche non sono state ancora individuate e per questo non è elencata in Tabella 1.

Cosa deve sapere il pediatra circa le febbri ricorrenti (malattie/sindromi auto-infiammatorie)^{3,4}

- Sono patologie su base genetica (monogenica) che determinano alterazioni delle proteine coinvolte nella regolazione della risposta infiammatoria. Sono patologie rare, eccetto la febbre mediterranea familiare che ha una prevalenza di 1/250-1000 tra la popolazione ebrea non ashkenazita, turca, armena e araba. Non è rara in Italia, Grecia e Spagna (http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Lng=IT&Expert=342).
- Gli episodi febbrili/infiammatori sono tutti uguali fra di loro e questo rappresenta il principale criterio che le differenzia dalle altre febbri di natura sconosciuta.
- L'esordio clinico è in gran parte dei casi precoce, di solito entro i 10 anni di età.
- Non sono esclusive dell'età pediatrica.
- Sono patologie croniche che portano a complicanze a lungo termine se non adeguatamente trattate, come l'amiloidosi conseguente a infiammazione cronica (amiloidosi AA).
- Possono essere efficacemente trattate con farmaci (anche "biologici") in grado di ottenere un buon controllo di malattia.

Quando un pediatra deve sospettare una PFAPA

Per maturare il sospetto di PFAPA, in genere, è sufficiente una buona ed approfondita anamnesi, perché la diagnosi è solo clinica e non è necessario ricorrere a particolari indagini diagnostiche, anche se ovviamente nei primi episodi che colpiscono il bambino gli esami vengono fatti proprio per inquadrare la febbre.⁷ È utile ricordare che gli esami sono alterati (leucocitosi ed aumento di VES e PCR, mai neutropenia) durante la febbre ma sono normali nei periodi intercritici.^{9,10} La risposta al corticosteroide monodose, terapia di prima scelta della PFAPA, può essere considerata un ulteriore criterio di diagnosi perché determina una repentina discesa della temperatura (in meno di 6 ore) e degli altri sintomi associati (in meno di 48 ore) e prolunga gli intervalli liberi da malattia. Se il paziente non risponde alla terapia corticosteroidea bisogna considerare altre cause di febbre periodica, in particolare la febbre mediterranea familiare e la febbre associata al difetto di mevalonato chinasi. Nella Tabella 2 sono elencati i principali criteri diagnostici.⁸

Tabella 2. PFAPA: principali criteri diagnostici

- Esordio sotto i 5 anni
- Quadro clinico tipico caratterizzato da:
 - faringite essudativa (74%)
 - aumento di volume dei linfonodi laterocervicali (70%)
 - aftosi orale (68%)
 - intensa iperemia faringea (64%)
 - dolore addominale (36%)
- Intervallo libero da sintomi tra un episodio ed il successivo
- Bambino in buona salute nei periodi intercritici

Modificata da Gattorno et al.³

Quando un pediatra deve sospettare una febbre periodica monogenica

Se siamo di fronte ad una febbre periodica ed abbiamo escluso che questa possa essere una PFAPA, cosa dobbiamo fare per inquadrare le altre forme di febbre periodica (dette monogeniche)? Molti dei sintomi delle varie forme (cfr Tabella 1) sono sovrapponibili e quindi la differenziazione potrebbe risultare difficoltosa. In realtà una corretta ed approfondita anamnesi ci indicherà la strada per l'inquadramento della forma. La durata del singolo episodio febbrile, la frequenza con cui avvengono gli episodi, le caratteristiche cliniche dei periodi intercritici e, soprattutto, la sintomatologia principale che accompagna il sintomo febbre, sono tutti parametri che ci possono indirizzare verso una forma oppure l'altra.¹²

Non è argomento principale di questa *“Guida Pratica sulle immunodeficienze per il pediatra”* entrare nello specifico delle patologie auto-infiammatorie. Qui si vuole dare una visione di insieme che permetta l'orientamento quando ci si trova di fronte ad una febbre periodica/ricorrente. A tal fine, in Tabella 3 sono elencate le principali patologie e le loro principali caratteristiche cliniche, sintomatologiche e di laboratorio. Per evitare inutili batterie di esami, Gattorno et al. hanno elaborato uno score diagnostico che può servire come strumento per l'indicazione al test genetico nei bambini con febbre periodica o ricorrente.^{2,11} Gli autori, in maniera molto pratica, suggeriscono di calcolare, per ogni paziente con sospetta febbre periodica, uno score ad hoc collegandosi al sito www.primo.it/periodicfever, dove si trova anche una pratica flow-chart^{2,11} e altre informazioni sulle febbri periodiche.

Tabella 3. Principali caratteristiche cliniche delle febbri periodiche monogeniche

PATOLOGIA	ETÀ INSORGENZA	DURATA FEBBRE	SEGNO CLINICO	SEGNO CLINICO	SEGNO CLINICO	ESAMI	ALTRI SEGNI/SINTOMI
FMF	prima infanzia	12-72 ore	peritonite (dolore addominale; stipsi)	pleurite	artralgie	↑ PCR, VES neutrofilia	eruzione cutanea simil erezipela
TRAPS	prima infanzia	5 giorni - 3 settimane	peritonite (diarrea, stipsi)	mialgie, artralgie	congiuntivite, edema periorbitario	↑ PCR, VES	rash migrante
HIDS	1-2 anni	3-7 giorni	linfoadenopatie (laterocervicali)	cefalea	poliartrite, poliartralgie	↑ IgD, IgA, ↑ VES, PCR	dolori addominali (vomito, diarrea)
FCAS	varia	12-48 ore	rash orticarioide; artralgie	congiuntivite	cefalea	aumento dei marker di infiammazione	nausea
MWS	prima infanzia pre-adolescenza	12-36 ore	sordità neurosensoriale	artralgie	congiuntivite	aumento dei marker di infiammazione	rash orticarioide
CINCA	neonatale	continua (anche a "vampate")	rash orticarioide	ritardo mentale	uveite (anche perdita della vista)	aumento dei marker di infiammazione	ritardo di crescita

FMF: febbre mediterranea familiare. TRAPS: sindrome periodica associata al recettore 1 del fattore di necrosi tumorale. HIDS: sindrome da iper IgD; FCAS: sindrome auto-infiammatoria familiare da freddo. MWS: sindrome di Muckle-Wells. CINCA: sindrome cronica infantile neurologica, cutanea e articolare

Diagnostic score

Age at onset (months):

Abdominal pain: Never Sometimes Often Always

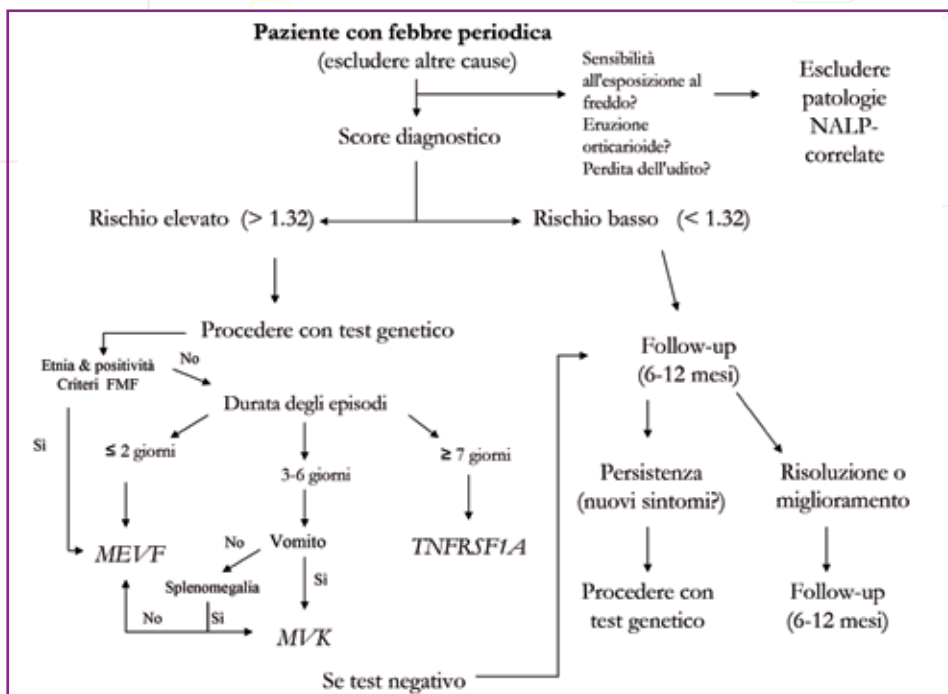
Aphthosis: Never Sometimes Often Always

Thoracic pain: Never Sometimes Often Always

Diarrhea: Never Sometimes Often Always

Family history: Yes No

FIGURA 1. Calcolo dello score (<http://www.primto.it/periodicfever/>)



Mod. da <http://www.primo.it/periodicfever/file/Flow-Chart.pdf>

Figura 2. Flow chart diagnostica

Bibliografia

1. Almeida de Jesus A, Goldbach-Mansky R. Monogenic autoinflammatory diseases: concept and clinical manifestations. *Clin Immunol* 2013; 147: 155-74.
2. McDermott MF, Aksentijevich I. The autoinflammatory syndromes. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2002; 2(6): 511-6.
3. Gattorno M et al. Un approccio evidence-based alla diagnostica molecolare delle febbri periodiche ereditarie. *Rivista Gaslini* 2009; 41(1): 5.
4. Colina M et al. Le sindromi autoinfiammatorie: errori congeniti dell'immunità innata. *Recenti Progressi in Medicina* 2007; 98(9): 457-70.
5. Long SS. Distinguishing among prolonged, recurrent, and periodic fever syndromes: approach of a pediatric infectious diseases subspecialist. *Pediatr Clin N Am* 2005; 52: 811-35.
6. Cantarini L, Rigante D, Brizi MG. Clinical and biochemical landmarks in systemic autoinflammatory diseases. *Annals of Medicine* 2012; 44: 664-73.
7. Tommasini A. Quando le febbri periodiche non hanno un nome e cognome: le febbri indifferenziate. Le febbri periodiche nel bambino e nell'adulto. Facciamo il punto. #non solo febbre 2. Genova (aula Magna Ist. Gaslini), 11 aprile 2014.
8. Federici S et al. Evidence-based provisional clinical classification criteria for autoinflammatory periodic fevers. *Ann Rheum Dis* 2015; 74: 799-805.
9. Jacobs Z, Ciaccio CE. Periodic Fever Syndromes. *Curr Allergy Asthma Rep* 2010; 10: 398-404.
10. Gattorno M et al. Differentiating PFAPA syndrome from monogenic periodic fevers. *Pediatrics* 2009; 124 (4): e721-e728.
11. Gattorno M et al. A diagnostic score for molecular analysis of hereditary autoinflammatory syndromes with periodic fever in children. *Arthritis & Rheumatism* 2008; 58 (6): 1823-32.
12. Lachmann HJ. Clinical Immunology Review Series: An approach to the patient with a periodic fever syndrome. *Clin Exp Immunol* 2011; 165: 301-9.

TUMORI

M.C. Verga, B. Cinicola

Il rischio complessivo di sviluppare un tumore nei pazienti affetti da Immunodeficienza Primitiva (IDP) è maggiore rispetto alla popolazione generale ed è stimato tra il 4 ed il 25%.¹ Nonostante la diagnosi precoce e la maggiore efficacia delle nuove terapie abbiano ridotto la mortalità e la morbilità correlata allo sviluppo di infezioni (o forse proprio per questo), la patologia neoplastica rappresenta una delle principali complicanze delle IDP e, dopo le infezioni, la seconda causa di morte.

Dai dati del primo grande studio epidemiologico, l'*Australasian Society of Clinical Immunology and Allergy (ASCIA) study*, e dall'*Immunodeficiency Cancer Registry (ICR)*, database sull'*immunodeficiency-associated cancer* della *University of Minnesota*, i **tumori più frequenti nei pazienti con IDP** risultano i linfomi non-Hodgkin (NHL, 48,6%) ed linfomi di Hodgkin (HL, 10%), con una età mediana d'esordio significativamente più bassa rispetto alla popolazione generale (7,8 vs. 9,3 anni).

Sono descritti anche casi di carcinoma del timo, della tiroide, cancro dello stomaco, leucemie e malattie linfoproliferative come la malattia multicentrica di Castelman.

Le **IDP maggiormente correlate allo sviluppo di tumori** sono l'atassia-teleangectasia (AT, 30%) e l'immunodeficienza comune variabile (*common variable immunodeficiency*, CVID, 24%); la sindrome di Wiskott-Aldrich (*Wiskott-Aldrich syndrome*, WAS, 16%), l'immunodeficienza combinata grave (SCID, 8%), il deficit selettivo di IgA (8%), l'agammaglobulinemia X-linked (XLA, 4%), la sindrome da Iper-IgM (*Hyper-IgM* 3%).

La protezione dai tumori è mediata preminentemente dai linfociti T, dalle cellule NK e dalle citochine prodotte che mandano in apoptosi (morte cellulare geneticamente programmata) le cellule alterate: ogni difetto differenziativo e funzionale di queste cellule, primitivo o secondario, può favorire lo sviluppo di tumori. Tra i meccanismi noti che condizionano la suscettibilità, il rischio di sviluppare tumori, pertanto, vanno tenuti presenti:

- mutazioni di geni coinvolti nei meccanismi di riparazione del DNA che determinano, in seguito ad un danno per esempio da radiazioni ionizzanti, errori di replicazione, perdita o riarrangiamento del materiale genetico. Esempi di IDP caratterizzate da tali mutazioni sono l'Atassia-Teleangectasia (mutazione del gene ATM) e la Sindrome da rotture cromosomiche di Nijmegen (mutazione del gene NBS). Nella Sindrome di Wiskott-Aldrich la mutazione del gene WASP predispone, oltre che ad un difetto nella funzione delle cellule NK e di altri meccanismi di sorveglianza immunitaria, anche a instabilità genomica. In particolare l'AT è il prototipo di questo gruppo di malattie. Autosomica recessiva, è caratterizzata dal progressivo impoverimento di linfociti (soprattutto T) a seguito degli errori di ricombinazione e l'insorgenza di tumori caratterizza le fasi avanzate della malattia, peraltro in età adolescenziale o nel giovane adulto. La instabilità cromosomica è evidente, seppure in forma minore, anche nei genitori eterozigoti, che hanno anch'essi una frequenza di tumori, soprattutto al seno, superiore rispetto alla popolazione generale;

- mutazione dei geni implicati nella soppressione di oncogeni come nella sindrome da iper-IgE autosomica recessiva (mutazione di STAT3 o di DOCK8) e nell'immunodeficienza comune variabile (mutazione del gene P53 che predispone al carcinoma gastrico);
- mutazioni a carico dei geni responsabili della risposta immunitaria antivirale: l'alterata risposta a specifici agenti patogeni come EBV, HPV o *Cryptosporidium*, determina diminuzione della clearance virale con mantenimento di uno stato infiammatorio persistente, ma soprattutto una prolungata stimolazione linfocitaria policlonale, come nella X-linked linfoproliferative disease (mutazione del gene XLP 1 o 2), nella epidermodisplasia verruciforme (mutazione del gene EVER 1 e 2), nella sindrome WHIM (*warts, hypogammaglobulinemia, infections and myelokathexis*; mutazione del gene CXCR4), con facilità a sviluppare linfomi;
- cause iatrogene, conseguenti a prolungate terapie immunosoppressive, trapianto di cellule staminali o terapia genica. Infatti, nei 6 mesi successivi a trapianto allogenico di cellule ematopoietiche c'è un aumentato rischio di proliferazione linfoide e/o plasmocitica (*post-transplant lymphoproliferative disorders* - PTLDs). Quest'ultima condizione risulta frequentemente associata all'infezione da EBV e può costituire una complicanza fatale dei trapianti, con una percentuale di mortalità del 50%.

Le **manifestazioni cliniche** delle neoplasie nelle IDP sono più gravi: i tumori si manifestano più precocemente ed al momento della diagnosi sono più diffusi e con metastasi generalizzate.

La **prognosi** è peggiore rispetto ai pazienti non affetti da IDP.

Il **trattamento delle neoplasie** nei pazienti con IDP segue i protocolli standard, ma comporta generalmente un aumentato rischio di eventi avversi correlato alla maggiore suscettibilità alle infezioni ed alla necessità di adottare schemi terapeutici più aggressivi (quindi più tossici) per la maggiore gravità e disseminazione tumorale, ma non per la maggiore resistenza al trattamento rispetto ai pazienti immunocompetenti.

L'intensità della chemioterapia varia enormemente a seconda del tipo di IDP di base e deve perciò essere aggiustata individualmente, in base allo stato immunitario e alla tolleranza del paziente, all'istologia e alla gravità della neoplasia.

La radioterapia, così come gli agenti radiomimetici come la bleomicina, deve essere evitata nei pazienti affetti da difetti nei geni di riparazione del DNA e limitata ai casi di assoluta necessità, alla minore dose di radiazioni possibile.

La prevenzione e il trattamento delle infezioni devono essere sempre associati alla terapia antitumorale, per evitare il rischio di complicanze e il fallimento della terapia stessa. In caso di linfopenia, attuare profilassi dell'infezione da *Pneumocystis carinii*. Nei casi di neoplasie associate a infezione virale persistente, gli antivirali (come l'aciclovir) potrebbero in teoria essere utili riducendo la carica virale, le recidive, lo stato infiammatorio cronico, ma non ci sono studi sulla loro reale efficacia e sicurezza in queste forme; il rituximab ha dato risultati incoraggianti su un piccolo numero di pazienti.

Il trapianto di cellule staminali è la terapia d'elezione per alcune IDP associate ad aumentato rischio di tumore; tuttavia, in alcuni casi, come nel deficit di DOCK 8, il rischio rimane invariato anche dopo il trapianto.

È necessario quindi **raccomandare ai pazienti** di:

1. riferire al medico anche i sintomi che potrebbero essere giustificati dalla loro patologia di base, come perdita di peso, astenia, sudorazione notturna, sanguinamento, febbri ricorrenti;
2. evitare fattori di rischio per cancro, come malattie sessualmente trasmissibili, alcool, obesità, esposizione al sole;
3. nelle sindromi da instabilità cromosomica, evitare l'esposizione solare oppure usare filtri totali, evitare assolutamente indagini diagnostiche radiologiche e sostituirle con metodiche prive di rischi radianti (RM, ecografie).

I pazienti con IDP devono sottoporsi agli stessi **test di screening** della popolazione generale, alle stesse età-filtro, salvo precise indicazioni.

Bibliografia

1. Salavoura K et al. Development of cancer in patients with primary immunodeficiencies. *Anticancer Res* 2008; 28(2B): 1263-9.
2. Aghamohammadi A, Mohammadinejad P. Malignancy in primary immunodeficiency. [www.uptodate.com](http://www.uptodate.com/contents/malignancy-in-primary-immunodeficiency) ©2016. <http://www.uptodate.com/contents/malignancy-in-primary-immunodeficiency>.
3. Shapiro RS. Malignancies in the setting of primary immunodeficiency: Implications for hematologists/oncologists. *Am J Hematol* 2011; 86: 48.
4. Bode SFN et al. The syndrome of hemophagocytic lymphohistiocytosis in primary immunodeficiencies: implications for differential diagnosis and pathogenesis. *Haematologica* 2015; 100(7): 978-88.

DIARREA CRONICA/INTRATTABILE

D. Peroni

Le presentazioni “classiche” delle IDP sono rappresentate da manifestazioni gastrointestinali, come diarrea intrattabile, malassorbimento, mancato accrescimento o patologia infiammatoria intestinale, che spesso non rispondono come atteso alla terapia convenzionale.

La diarrea cronica e le manifestazioni gastrointestinali in genere costituiscono la seconda causa più frequente di complicanze delle IDP dopo quelle respiratorie e sono state riportate in una percentuale variabile tra il 5 e il 50% dei pazienti con tipi differenti di IDP.

La premessa funzionale. Il tratto gastroenterico è considerato l'organo più ampio del sistema immunitario per la vasta superficie e la ricchezza di linfociti nella sotto-mucosa che costituiscono nel loro insieme il "sistema" GALT (*gut-associated lymphoid tissue*). Tale sistema è popolato da linfociti T e B regolatori, che sono in grado di modulare la maturazione e la differenziazione della risposta immune anche sotto la spinta del microbioma. L'intestino è anche la sede di produzione delle immunoglobuline secretorie di classe A IgAs che modulano la tolleranza agli antigeni e la risposta protettiva contro microorganismi invasivi. I difetti dell'immunità umorale o cellulare comportano, quindi, inevitabilmente processi infiammatori non controllati nell'intestino con danno alla mucosa intestinale e aumentato rischio di sviluppare diarrea cronica, processi infiammatori e autoimmuni persistenti e anche patologie neoplastiche.

Quando preoccuparsi. La diarrea infettiva è la manifestazione gastrointestinale (GI) più comune in molti casi di IDP. Le infezioni GI nei pazienti con IDP sono generalmente di durata e severità maggiori, richiedono un regime terapeutico più intensivo e prolungato. Frequentemente sono causate da organismi atipici e opportunistici, che usualmente non causano infezioni GI nei soggetti immunocompetenti.

Bisogna anche ricordare che, oltre alla diarrea cronica, le IDP possono associarsi con particolare frequenza, a causa del sovvertimento immunologico, a malattie infiammatorie croniche o autoimmuni dell'intestino come celiachia (10 volte più frequente nel deficit di IgA), colite ulcerosa e morbo di Crohn. In alcuni tipi di IDP, quali per esempio la immunodeficienza comune variabile (CVID), vi può essere un quadro di colite non specifica che, pur essendo simile a quello delle malattie infiammatorie intestinali, non risponde alla terapia come ci si aspetterebbe. In questa situazione immunologica e in altri tipi di IDP può associarsi allergia alimentare, come accade nella sindrome da iper-IgE e nella sindrome di Wiskott-Aldrich. Ciò accade di frequente anche nel deficit di IgA.

La diarrea cronica come sintomo in alcuni casi specifici di IDP.

Nella **immunodeficienza comune variabile (CVID)** le complicanze GI sono riportate nel 20-60% dei soggetti e non è infrequente il coinvolgimento isolato del tratto GI. La diarrea è il sintomo più frequente, accompagnato da malassorbimento e perdita di peso. Le infezioni sono la causa principale della diarrea acuta e cronica: Giardia, citomegalovirus prevalgono nella forma cronica, Campylobacter, Salmonella e norovirus nelle forme acute.

Nella **agammaglobulinemia X-linked**, caratterizzata da difetto di B linfociti, la diarrea cronica e il malassorbimento sono causati da infezioni da Giardia, Salmonella, Campylobacter e Rotavirus.

Nella **immunodeficienza combinata grave (SCID)** la diarrea è ricorrente ed intrattabile e causata sia da virus che da batteri. L'agente più comune è il rotavirus ma anche picornavirus, parvovirus, citomegalovirus, Salmonella, Giardia, Escherichia e Cryptosporidium possono essere in causa.

Nella **sindrome IPEX** o in quelle similari quasi tutti i pazienti sviluppano nei primi tre mesi di vita una diarrea acquosa profusa accompagnata da malassorbimento grave. È

una patologia grave che non risponde alle modificazioni dietetiche e al digiuno, come fanno invece l'allergia grave o l'enterocolite da proteine alimentari (FPIES).

Nella diarrea cronica dove si sospetti una IDP che esami fare?

- Emocromo con formula
- Dosaggio immunoglobuline
- Coprocoltura per virus, batteri e miceti
- Dosaggio sottopopolazioni linfocitarie (esame di II livello)



KEYPOINTS

- Nei bambini le infezioni respiratorie ricorrenti (IRR) sono la più comune presentazione di esordio delle immunodeficienze primitive (IDP).
- Tra le sedi "inusuali" di infezione vanno segnalate la cute, le infezioni a carico dell'osso e le linfadeniti.
- La mancata crescita o il ritardo di crescita sono sintomi frequentissimi in tutte le IDP: il pediatra deve valutare le abitudini alimentari del bambino con immunodeficienza e le problematiche di crescita, valutare l'intake nutrizionale e l'eventuale invio del bambino a un Centro specialistico per un corretto intervento dietetico e un adeguato follow-up.
- Le immunodeficienze primitive possono avere nel loro corredo sintomatologico manifestazioni di autoimmunità.
- L'autoimmunità può essere considerata una forma di immunodeficienza.
- Il rischio complessivo di sviluppare un tumore nei pazienti affetti da immunodeficienza primitiva è maggiore rispetto alla popolazione generale ed è stimato tra il 4 e il 25%.
- La diarrea cronica e le manifestazioni gastrointestinali in genere costituiscono la seconda causa più frequente di manifestazione delle IDP dopo quelle respiratorie e sono state riportate in una percentuale variabile tra il 5 e il 50% dei pazienti con tipi differenti di IDP.

Bibliografia essenziale

- Notarangelo L. Primary immunodeficiencies. J Allergy Clin Immunol 2010; 125: S182-94.
- Gray PA et al. Recurrent infection in children: when and how to investigate for primary immunodeficiency? J Paed Child Health 2012; 48: 202.
- Bakare N et al. Severe combined immunodeficiency (SCID) and rotavirus vaccination: reports to the vaccine adverse events reporting system. Vaccine 2010; 28: 6609-12.

Il sospetto clinico: i 10 segni di allarme della Jeffrey Model Foundation

A. Soresina, V. Moschese, S. Graziani, G. Simeone

Le immunodeficienze primitive (IDP) rappresentano un gruppo eterogeneo di disturbi del sistema immunitario che predispongono alle infezioni, a una immunodisregolazione che si esprime con autoimmunità o auto infiammazione e alle neoplasie. A oggi sono circa 300 le IDP identificate.^{1,2} Si tratta per lo più di condizioni rare, con incidenza variabile a seconda della IDP considerata. Alcuni esempi: l'incidenza nota in letteratura è di 1:250.000 nati vivi per la Malattia Granulomatosa Cronica, di 1:100.000 maschi nati vivi per l'agammaglobulinemia X-recessiva, di 1:75.000-1:100.000 nati vivi per le Immunodeficienze Combinate Severe (SCID), di 1:10.000 per l'Immunodeficienza Comune Variabile, mentre per il difetto selettivo di IgA la frequenza stimata è di 1:300-500 persone. Pur con i limiti dei dati epidemiologici disponibili e delle differenze geografiche, le stime più recenti riportano una **prevalenza complessiva** fino a 1:1.200 nati vivi.³

Questo significa che ciascun pediatra di famiglia ha la probabilità di avere più di un bambino affetto da IDP tra i suoi assistiti. La precoce identificazione di una IDP è indispensabile per intervenire in modo adeguato prima che insorgano infezioni gravi o complicanze che possono compromettere la prognosi e la qualità di vita di questi pazienti, determinando inoltre enormi costi sanitari sia diretti che indiretti a carico del paziente, bambino o adulto, della sua famiglia e dell'intera comunità.

Tuttavia, il pronto riconoscimento delle IDP e la diagnosi differenziale con altre patologie continua a rappresentare una grande sfida per il pediatra. Il ritardo di diagnosi, cioè la differenza temporale tra la comparsa dei sintomi e la diagnosi, è ancora troppo elevato: a tutt'oggi può essere anche di vari anni per molte forme di IDP, con considerevole incremento della morbilità e della mortalità.

Al fine di accompagnare il ragionamento clinico e fornire uno strumento utile ai clinici nel sospettare una IDP, nel 1993 la *Jeffrey Modell Foundation* (JFM), una organizzazione americana no-profit, con la collaborazione di una *Consensus* di esperti ha redatto un elenco di 10 segni di allarme ("*10 Warning Signs*"). Quando sono presenti 2 o più segnali di allarme il sospetto clinico di immunodeficienza è concreto (Tab. 1).

Tabella 1. I "10 Warning Signs" della Jeffrey Modell Foundation

1.	<i>Più di 4 otiti in un anno</i>
2.	<i>Più di 2 sinusiti in un anno</i>
3.	<i>Più di 2 mesi di antibiotici in un anno</i>
4.	<i>Due polmoniti in un anno</i>
5.	<i>Bambino con ritardo di crescita o sottopeso</i>
6.	<i>Ascessi ricorrenti della cute o degli organi interni</i>
7.	<i>Candidiasi orale o cutanea persistente</i>
8.	<i>Necessità di terapia antibiotica per via endovenosa per eradicare un'infezione</i>
9.	<i>Più di 2 infezioni gravi in un anno</i>
10.	<i>Familiarità per immunodeficienza primitiva</i>

Nella comune pratica clinica i 10 segnali di allarme della JMF continuano a rappresentare un buon punto di partenza per aiutare a sospettare una IDP. In questo contesto i due punti cardine sono rappresentati dalla storia familiare e dalle infezioni.

Familiarità

Le IDP sono prevalentemente disordini monogenici a trasmissione mendeliana, tuttavia sono state osservate anche forme poligeniche. Possono essere a trasmissione legata alla X (forma X-linked) o a trasmissione autosomica recessiva o dominante. Nel sospetto di una immunodeficienza primitiva **la storia familiare deve essere attentamente indagata**, con particolare riferimento alla presenza di familiari morti:

- in età pediatrica per cause non spiegate
- in età pediatrica per cause infettive
- prevalentemente nel gentilizio materno.

La presenza di consanguineità e, ovviamente, di familiari con IDP sono altri due elementi da indagare a fondo nell'anamnesi. A questo proposito va segnalato che le IDP insorte in famiglie con consanguineità non solo presentano fenotipi clinici più gravi, causati da una maggiore incidenza di complicanze infettive, infezioni atipiche, maggiore compromissione dello stato generale del paziente con un'aumentata mortalità, ma hanno anche un esordio clinico più precoce. Questo è un elemento importante da te-

nera in considerazione, soprattutto in quei distretti sanitari dove è alta la proporzione di immigrati da Paesi con elevata frequenza di matrimoni tra consanguinei.

L'analisi della storia familiare è dunque fondamentale per orientare il sospetto clinico e giungere così ad una diagnosi precoce. Il *counselling* genetico svolge un ruolo importante in quelle famiglie in cui è presente una IDP con mutazione genetica nota. In questi casi, infatti, si può procedere alla diagnosi prenatale. Si può dunque affermare che le indagini di portatore eseguite prima del concepimento, il *counselling* genetico e la diagnosi prenatale sono degli strumenti fondamentali per la gestione dei pazienti affetti da IDP e delle loro famiglie e, insieme ai programmi di screening neonatali in corso di sviluppo, possono garantire non solo una diagnosi precoce ma anche la tempestiva applicazione delle strategie terapeutiche adeguate, così da ottenere una sempre migliore qualità di vita.

Infezioni

La principale manifestazione clinica delle immunodeficienze primitive è rappresentata dalle infezioni. **Generalmente le infezioni di un paziente con deficit immunitario si caratterizzano per una maggiore frequenza, durata e gravità rispetto a un paziente immunocompetente.**

In alcuni casi le infezioni possono essere sostenute da patogeni opportunisti o da patogeni comuni che in alcuni difetti immunitari possono risultare particolarmente pericolosi per il paziente. In pratica, un'elevata frequenza e gravità delle infezioni devono indurre il pediatra a sospettare una immunodeficienza e, conseguentemente, a inviare al Centro specialistico per gli approfondimenti diagnostici del caso.

Nel sospetto di un'immunodeficienza primitiva non bisogna dimenticare che la suscettibilità ai differenti patogeni è strettamente legata al tipo di difetto immunitario, come schematizzato nella Tabella 2. Infatti, i pazienti affetti da un difetto del compartimento umorale sono frequentemente soggetti non solo a infezioni causate da batteri piogeni capsulati, quali lo *Streptococcus pneumoniae*, l'*Haemophilus influenzae*, la *Neisseria meningitidis* e lo *Staphylococcus aureus*, ma anche a infezioni causate da virus quali gli *Echovirus*, i *Poliovirus* e i *Coxsackie virus*, e in particolare da protozoi, quali la *Giardia*. I pazienti con un difetto dell'immunità cellulare sono, invece, maggiormente suscettibili alle infezioni da *Salmonella* e da micobatteri non-tubercolari, mentre tra i patogeni opportunisti si ha una maggiore incidenza di infezioni da *Pneumocystis jirovecii* e *Cryptosporidium parvum*. Nel caso dei difetti combinati T e B i pazienti possono essere esposti a qualsiasi tipo di infezione, con una maggiore incidenza di infezioni da germi opportunisti. I difetti del complemento si associano prevalentemente a infezioni da germi capsulati quali lo *Streptococcus pneumoniae* e l'*Haemophilus influenzae*, responsabili di infezioni a carico delle vie respiratorie; la *Neisseria meningitidis* viene osservata soprattutto nei deficit dei componenti terminali della cascata del complemento. I pazienti con difetti dei fagociti, come quelli affetti da malattia granulomatosa cronica (CGD), sono maggiormente esposti a infezioni da stafilococchi, *Aspergillus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia marcescens*, *Nocardia*, *Chromobacterium violaceum* e *Burkholderia cepacia*.

Tabella 2. Classificazione delle IDP¹

	ESORDIO	CARATTERISTICHE CLINICHE
Difetti anticorpali	Dopo i 6-8 mesi	Infezioni batteriche politopiche dopo i 6 mesi di vita
Immunodeficienze combinate	Precoce	Infezioni severe batteriche, virali, fungine e da opportunisti dai primi mesi di vita, candidiasi mucocutanea cronica, diarrea cronica, arresto di crescita, rash cutaneo
Difetti dei fagociti e neutropenia	Precoce	Infezioni cutanee, polmonari e linfonodali da batteri o funghi
Difetti del complemento	Variabile	Meningiti batteriche, infezioni respiratorie (deficit fattori tardivi), malattie autoimmuni (deficit fattori precoci)
Sindrome da iper-IgE	Precoce	Infezioni polmonari e cutanee stafilococciche, associate a facies caratteristica e alterazioni scheletriche (forma autosomica dominante) Infezioni virali severe, herpes virus, mollusco contagioso, infezioni batteriche (forma autosomica recessiva), entrambe associate a eczema severo, elevati livelli di IgE totali ed eosinofilia
Sindrome di Wiskott- Aldrich	Precoce	Infezioni batteriche, virali associate a piastrinopenia, eczema e autoimmunità

Tuttavia, sebbene i criteri della JMF siano stati molto utili soprattutto per l'identificazione dei difetti anticorpali, con il passare degli anni hanno mostrato di avere bassa sensibilità e specificità per il riconoscimento di alcune forme di IDP, quali per esempio le IDP da difetti combinati o dell'immunità innata.² D'altro canto questo non sorprende, visto il gran numero di nuove immunodeficienze caratterizzate da una grande eterogeneità clinica.⁴ Infatti, se è vero che le infezioni rappresentano la principale manifestazione clinica di esordio in età pediatrica, tuttavia non è rara la presentazione di una condizione di IDP con patologie gastrointestinali, come la diarrea cronica con o senza malassorbimento, oppure con manifestazioni cutanee o patologie autoimmuni, non riconducibili ad altra causa nota. O, ancora, un singolo episodio di infezione invasiva, il ricorrere di infezioni causate dallo stesso germe possono costituire la presentazione di una IDP severa. Tali condizioni non sono considerate nell'elenco dei segnali di allarme.

Recentemente sono stati proposti modelli di *scoring* diversi da quello della JMF ma con risultati poco convincenti. L'identificazione di un gruppo di "segnali di allarme" che possa accomunare tutte le forme di IDP e che sia valido in qualsiasi contesto ambientale è ancora irrealizzabile; le differenze geografiche e razziali, le differenti organizzazioni sanitarie e le diverse disponibilità economiche rendono difficile anche delineare un approccio comune. La recente implementazione di registri nazionali e internazionali, con la raccolta di dati clinici, di diagnosi e terapia, potrà contribuire a definire con

maggior precisione i principali sintomi di esordio delle diverse IDP. Così la sempre maggiore diffusione di Linee Guida e raccomandazioni sulle diverse IDP potrà migliorare le conoscenze dei medici sia per la diagnosi che per l'avviamento tempestivo ai Centri di riferimento e per la terapia nell'ambito di una rete assistenziale territorio-ospedale sempre più integrata.



KEYPOINTS

- Nel 1993 la *Jeffrey Modell Foundation* ha sviluppato i “10 Warning Signs” per fornire criteri orientativi per il sospetto di IDP, che diviene probabile quando ne sono presenti almeno due.
- Nel sospetto di una immunodeficienza primitiva la storia familiare deve essere attentamente indagata, perché si tratta prevalentemente di disordini monogenici a trasmissione mendeliana.
- Sebbene i criteri della *Jeffrey Modell Foundation* siano molto utili per l'identificazione dei difetti anticorpali, hanno dimostrato nel tempo bassa sensibilità e specificità per il riconoscimento di alcune forme di IDP, quali per esempio le IDP da difetti combinati o dell'immunità innata.
- Nonostante i tentativi di migliorare i criteri, non esistono ancora strumenti migliori e applicabili universalmente. I registri nazionali potranno darci risposte più precise in un prossimo futuro.

Bibliografia

1. Chapel H et al. Primary Immune deficiencies – principles of care. *Front Immunol* 2014; 5: 627.
2. Picard C et al. Primary Immunodeficiency Diseases: an Update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee for Primary Immunodeficiency 2015. *J Clin Immunol* 2015; 35(8): 696-726.
3. O'Keefe AW et al. Primary Immunodeficiency for the primary care provider. *Paediatr Child Health* 2016; 21(2): e10-4.
4. O'Sullivan MD, Cant AJ. The 10 warning signs: a time for a change? *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2012; 12(6): 588-94.

Le indagini diagnostiche

LE INDAGINI DI “PRIMO LIVELLO”

L. Leonardi, F. Cardinale, D.G. Ghiglioni

Introduzione

A oggi si conoscono circa 300 immunodeficienze primitive (IDP), la larga maggioranza delle quali dalle basi molecolari note, raggruppate per motivi classificativi in 9 grandi famiglie (Tabella 1). In termini di prevalenza, oltre il 50% delle IDP è rappresentato dai deficit anticorpali, come dimostrano i dati raccolti nei database internazionali.¹ La frequenza relativa dei deficit umorali è comunque probabilmente più alta, in considerazione del fatto che molti deficit anticorpali minori non vengono segnalati nei registri internazionali o sfuggono alla diagnosi per via del quadro clinico attenuato. Per converso, molte IDP, specie quelle di più recente identificazione, di tipo “disregolatorio” (IDP “non convenzionali”) rappresentano entità cliniche assolutamente rare, di cui sono segnalati spesso pochi casi nel mondo. Se si considerano comunque nel loro insieme tanto le forme “convenzionali”, comprensive dei deficit anticorpali minori (deficit di IgA, deficit anticorpali specifici con normali livelli di immunoglobuline) e dei deficit del complemento, quanto quelle disregolatorie e sindromiche, è possibile affermare che la prevalenza delle IDP nella popolazione supera, del tutto verosimilmente, quella di 1 ogni 500-1000 individui. Alcune IDP rappresentano delle autentiche urgenze immunologiche, in particolare le immunodeficienze combinate gravi (SCID), talune IDP caratterizzate da disregolazione del sistema immunitario (es. sindromi emofagocitiche familiari) e alcuni deficit dell’immunità innata o della funzione fagocitica.

Tabella 1. Classificazione delle IDP¹

1	Immunodeficienze a carico dell’immunità umorale e cellulare
2	Immunodeficienze associate a manifestazioni sindromiche
3	Deficit prevalentemente anticorpali
4	Malattie da disregolazione immunologica
5	Difetti congeniti dei fagociti (numero, funzione o entrambi)
6	Difetti nell’immunità intrinseca e innata
7	Malattie autoinfiammatorie
8	Deficit del complemento
9	Fenocopie di IDP

Il pediatra rappresenta spesso l’unica concreta possibilità per questi pazienti di ricevere una diagnosi precoce, prerogativa fondamentale per l’avvio di un corretto iter diagnostico-terapeutico. I dati di letteratura inerenti alla diagnosi delle IDP umorali

in età pediatrica indicano infatti un ritardo medio tra l'insorgenza dei primi sintomi e la diagnosi di circa 2,5 anni.² Pertanto, è necessario che il pediatra sia in grado di inquadrare almeno le IDP "convenzionali" che non solo sono le più frequenti, ma anche quelle più spesso caratterizzate da decorso severo. Esami di primo livello vanno quindi sempre eseguiti nel caso di bambini che presentino uno o più dei 10 campanelli d'allarme (cfr capitolo presente in questa Guida), ma anche di fronte a quadri clinici caratterizzati da infezioni persistenti o ricorrenti e selettive per lo stesso patogeno (anche se microorganismi comuni), dermatosi, lesioni granulomatose o plurime manifestazioni autoimmuni non altrimenti spiegabili. Tali caratteristiche contraddistinguono infatti fenotipi clinici "nuovi", spesso di grado intermedio di severità e a esordio tardivo, che rappresentano il segno di un non corretto funzionamento dell'immunità innata o adattativa.³ Sotto il profilo fisiopatologico le IDP sono espressione di un'alterazione a uno o più livelli dell'intricato network della risposta immune. A dispetto però della loro complessità fisiopatologica e del costante aumento di nuove forme di IDP con fenotipo clinico "non convenzionale", poche indagini, insieme con il fenotipo clinico, consentono di identificare la maggior parte delle IDP più frequenti, in particolare i deficit anticorpali, le SCID, alcuni deficit della funzione fagocitica e alcune forme sindromiche.⁴

Esame emocromocitometrico

L'attenta lettura dell'emocromo riveste un ruolo fondamentale nella diagnosi di molte IDP, in particolare delle neutropenie primitive e di molte IDP combinate, oltre che nella sindrome di Wiskott-Aldrich e nella sindrome da deficit di adesione leucocitaria (LAD).

Una **riduzione del valore assoluto dei neutrofili (N)** individua una condizione di **neutropenia**. Le neutropenie sono classificate in base al numero di N, in forme lievi ($N < 1.500/\text{mm}^3$), moderate ($N < 1.000/\text{mm}^3$) e severe ($N < 500/\text{mm}^3$). Nel bambino di età inferiore a 1 anno, invece, il cut-off per definire la neutropenia è una conta di $N < 1.000/\text{mm}^3$.

Condizioni di neutropenia lieve o moderata sono relativamente frequenti, hanno carattere transitorio e sono spesso secondarie a infezioni virali o all'uso di farmaci. Molto frequenti sono anche le neutropenie autoimmuni, in particolare nei bambini molto piccoli, associate peraltro a un'alta probabilità di risoluzione spontanea entro i 5 anni di vita.

In generale, una riduzione persistente e severa del numero dei neutrofili ($N < 500/\text{mm}^3$), associata a un esordio di sintomi infettivi nei primi mesi di vita, deve far sospettare una neutropenia congenita severa (NCS) nelle sue diverse varianti genetiche, legata a un arresto maturativo dei precursori mieloidi a livello del promielocito.⁵ In questa, come in altre forme di neutropenie primitive, è comune il riscontro di monocitosi e di eosinofilia nell'emocromo. Oscillazioni importanti dei neutrofili della durata di 3-6 giorni, specie se si ripetono ogni 21-28 giorni circa, identificano invece una neutropenia ciclica, la cui



diagnosi differenziale richiede l'esecuzione di un emocromo 2-3 volte alla settimana per 6-8 settimane. È importante comunque richiedere in tutti i casi di neutropenia uno striscio periferico e fare attenzione alle altre linee cellulari, integrando il tutto con il quadro clinico, allo scopo di escludere una patologia emo-linfoproliferativa.

Una neutropenia isolata moderato-severa fa parte comunque anche di IDP più complesse, come la sindrome di Shwachman-Diamond, le sindromi da Iper-IgM, la WHIM (*Warts, Hypogammaglobulinemia, Infections, and Myelokathexis*), la IPEX (disfunzione del sistema immunitario, poliendocrinopatia ed enteropatia legata al cromosoma X, o *Immune Dysregulation, Polyendocrinopathy, Enteropathy, X-linked Syndrome*), alcune varianti della sindrome di Wiskott-Aldrich e la stessa agammaglobulinemia X-linked (XLA) durante una fase infettiva. In generale, il riscontro di una neutropenia severa richiede sempre l'afferenza del paziente verso un Centro specializzato nella diagnosi delle IDP.

Quando la conta differenziale leucocitaria individua invece un **incremento del valore assoluto dei neutrofili** (con livelli 5-10 volte superiori al normale) associato a infezioni batteriche ricorrenti senza produzione di pus e una storia di ritardato distacco del cordone ombelicale (>4 settimane) o di disfunzione piastrinica è da sospettarsi una **sindrome da deficit di adesione leucocitaria (LAD)**. La LAD, di cui si conoscono comunque tre diverse varianti, nella forma più comune è caratterizzata da un difetto di migrazione verso il sito di infezione con conseguente aumento di neutrofili circolanti inefficaci. La diagnosi è confermata da esami di II livello come l'espressione delle $\beta 2$ -integrine (CD18) sulla superficie cellulare in citofluorimetria e lo studio di mutazione.

Inoltre, nella conta differenziale leucocitaria ha particolare importanza, nel sospetto di IDP, il valore assoluto dei linfociti. A questo proposito è importante ricordare che la formula leucocitaria vede una prevalenza dei linfociti (L) rispetto ai neutrofili (N) fino ai 4-5 anni, epoca in cui i rapporti tra queste due linee cellulari si invertono. Pertanto, una **linfocitopenia** nei primi anni di vita si traduce anche in una diminuzione dei globuli bianchi totali e, viceversa, una leucopenia deve indurre il pediatra a guardare con attenzione, oltre che i valori di neutrofili, anche il numero assoluto dei linfociti totali, ri-

ferendosi a valori corretti per l'età (Tabella 2). Una linfocitopenia, definita in genere da un valore assoluto di $L < 3.000/mm^3$ nei bambini ($L < 1.500/mm^3$ negli adulti) suggerisce spesso un deficit di linfociti T (costituenti il 65-75% dei L circolanti).⁶ Una linfocitopenia più o meno marcata, nel contesto di un quadro clinico caratterizzato da diarrea cronica con distrofia, infezioni polmonari recidivanti o severe (specie se da patogeni opportunisti), candidosi orale persistente o sistemica e dermatite severa o eritrodermica, deve far immediatamente sospettare una **SCID** (esclusa ovviamente una infezione verticale da HIV) o, comunque, una IDP complessa e/o severa.⁷ Di fronte a un quadro clinico suggestivo, quando l'emocromo dimostri una linfocitopenia, è mandatario eseguire un immunofenotipo linfocitario (pannello "ristretto"), anche se i livelli di immunoglobuline sono nella norma e, comunque, richiedere una valutazione immunologica. Quasi tutte le SCID sono caratterizzate da un difetto di maturazione (e quindi numerico) dei linfociti T totali o di singole sottopopolazioni (CD4+ o CD8+), a cui può associarsi o meno un deficit dei linfociti B (per questo si distinguono SCID T-B- e SCID T-B+) e delle cellule NK.⁸ Il sospetto del pediatra curante ha un ruolo decisivo perché una diagnosi precoce di queste IDP potenzialmente fatali permette un appropriato intervento terapeutico prima che il quadro sia irrimediabilmente compromesso.

Tabella 2. Esame emocromocitometrico: valori di linfociti e neutrofili normali per fascia di età¹⁰

ETÀ	NEUTROFILI		LINFOCITI	
	RANGE	%	RANGE	%
Nascita	(6,0 – 26,0)	61	(2,9 – 11,0)	31
24 ore	(5,0 – 21,0)	61	(2,0 – 11,5)	31
1 settimana	(1,5 – 10,0)	45	(2,0 – 17,0)	41
1 mese	(1,0 – 9,0)	35	(2,5 – 16,5)	56
6 mesi	(1,0 – 8,5)	32	(4,0 – 13,5)	61
1 anno	(1,5 – 8,5)	31	(4,0 – 10,5)	61
2 anni	(1,5 – 8,5)	33	(3,0 – 9,5)	59
4 anni	(1,5 – 8,5)	42	(2,0 – 8,0)	50
6 anni	(1,5 – 8,5)	42	(2,0 – 8,0)	50
8 anni	(1,5 – 8,0)	53	(1,5 – 6,8)	39
10 anni	(1,8 – 8,0)	54	(1,5 – 6,5)	38
16 anni	(1,8 – 8,0)	57	(1,2 – 5,2)	35
21 anni	(1,8 – 7,7)	59	(1,0 – 4,8)	34

In un paziente con sospetta IDP è importante fare attenzione nell'esame emocromocitometrico anche alla conta e al volume delle piastrine. Una **trombocitopenia con piastrine piccole** ($<5 \mu^3$) associata o meno a eczema e a un deficit anticorpale o a una neutropenia è fortemente sospetta per una **sindrome di Wiskott Aldrich**.

I risultati dell'esame emocromocitometrico devono essere interpretati con estrema attenzione, tenendo sempre conto non solo della storia clinica del bambino e della sua obiettività al momento del prelievo, ma anche dei diversi range di normalità, che cambiano con l'età del paziente.

Dosaggio delle immunoglobuline sieriche

Il dosaggio delle immunoglobuline (Ig) sieriche (IgG, IgM, IgA) va attuato in tutti i pazienti con sospetto di IDP, in quanto bassi livelli di uno o più isotipi delle Ig sono presenti nella maggioranza delle IDP di tipo "convenzionale" e in quasi tutti i deficit dell'immunità umorale (Tabella 3). Il protidogramma rappresenta un test troppo grossolano per consentire di escludere un deficit anticorpale, ma può servire a escludere una ipogammaglobulinemia da perdita di Ig attraverso il riscontro di un quadro di ipodisprotidemia. Nel considerare i valori delle Ig sieriche è fondamentale riferirsi a valori di normalità stabiliti per fascia di età, in quanto in età pediatrica la produzione anticorpale è correlata alla maturazione età-dipendente del sistema immunitario; inoltre, nei primi mesi di vita le IgG circolanti sono soprattutto di origine materna, venendo trasmesse per via transplacentare nelle ultime settimane di età gestazionale.⁹ In Italia i valori normali più comunemente utilizzati sono quelli di Ugazio e coll. (Tabella 4).

Valori di IgA <7 mg/dl, con IgG e IgM normali e normali livelli di cellule B circolanti, identificano un **deficit assoluto di IgA** (DIgA). Livelli di IgA $<3^{\circ}$ centile per l'età, ma >7 mg/dl identificano un DIgA parziale. È importante ricordare che, a differenza delle IgM, i livelli di IgA aumentano dalla nascita fino alla terza infanzia e all'adolescenza. Va comunque ricordato che il DIgA (la cui prevalenza è circa 1:300-1:800) è caratterizzato da un decorso in molti casi asintomatico. I casi sintomatici presentano soprattutto infezioni ricorrenti del tratto respiratorio o gastrointestinale, atopia, malattie autoimmuni (soprattutto la celiachia) e in casi rari sindromi linfoproliferative. In una minoranza di pazienti con DIgA è possibile riscontrare un deficit associato di sottoclassi IgG (soprattutto IgG2). In questi è riportata una sintomatologia infettiva di maggiore severità.

Tabella 3. Livelli di Ig sieriche nelle principali IDP

IDP	IgG	IgA	IgE	IgM
Atassia telangiectasia	Sottoclassi basse	Spesso basse	Spesso basse	Alte (monomeri)
XLA	Basse o assenti	Basse o assenti	Basse o assenti	Basse o assenti
CD40/CD40L defic.	Basse	Basse	Basse	N o alte
CVID	Basse	Basse o assenti	A volte basse	A volte basse
Sindrome da iper-IgE	N	N	Alte	N
Deficit sottoclassi IgG	N	N	N	N
SCID	Generalmente basse	Generalmente basse	Basse o anche alte (S. di Omenn)	Generalmente basse
Deficit di IgA	N	Basse o assenti	N	N
WAS	Spesso alte	Spesso alte	Spesso alte	Basse

CVID: immunodeficienza comune variabile; SCID: immunodeficienza combinata severa; WAS: sindrome di Wiskott-Aldrich; XLA: X-linked agammaglobulinaemia; N: normale

Tabella 4. Livelli sierici di Ig. Valori normali per età (mg/dl)¹⁰

ETÀ	IgG	IgA	IgM
Cordone ombelicale	1.112 (862-1.434)	non dosabili	9 (5-14)
1-3 mesi	468 (231-497)	24 (8-74)	74 (26-210)
4-6 mesi	434 (222-846)	20 (6-60)	62 (32-132)
7-12 mesi	569 (351-919)	29 (10-85)	89 (38-204)
13-24 mesi	801 (264-1.509)	54 (17-178)	128 (48-337)
2-3 anni	889 (462-1.710)	68 (27-173)	126 (62-257)
4-5 anni	1.117 (528-1.959)	98 (37-257)	119 (49-292)
6-8 anni	1.164 (462-1.682)	113 (41-315)	121 (56-261)
9-11 anni	1.164 (707-1.919)	127 (60-270)	129 (61-276)
12-16 anni	1.105 (640-1.909)	136 (61-301)	132 (59-297)

Livelli ridotti di IgG (soprattutto se associati a bassi livelli di IgA e/o IgM) configurano una condizione di **ipogammaglobulinemia**. Una ipogammaglobulinemia importante, in associazione con una sintomatologia infettiva respiratoria (soprattutto sinusiti e broncopolmoniti) o gastrointestinale e/o di autoimmunità (soprattutto citopenie autoimmuni), in un bambino di età >4 anni, deve far sospettare una **immunodeficienza comune variabile** (CVID). La CVID è tra le IDP umorali più frequenti (1:10.000-100.000). I pazienti con CVID tipicamente non sono in grado di elaborare risposte anticorpali nei confronti di antigeni (Ag) “di memoria” e pertanto presentano livelli ridotti o assenti di anticorpi verso Ag vaccinali (a differenza dei bambini con **ipogammaglobulinemia transitoria dell’infanzia**, che comunque si risolve completamente entro i 4 anni). Va detto che la CVID può esordire a qualunque età (spesso anche in età adulta), più comunemente dopo i 10 anni. Nei pazienti in cui si sospetta una CVID è necessario procedere allo studio delle sottopopolazioni linfocitarie (vedi dopo).

La **XLA** (agammaglobulinemia x-recessiva o malattia di Bruton) e la **ARA** (agammaglobulinemia autosomica-recessiva) sono caratterizzate da livelli molto ridotti o addirittura indosabili di tutte le Ig sieriche con assenza delle cellule B (<2% dei L totali). Sono comunque noti casi assolutamente atipici di XLA caratterizzati da livelli ridotti di un solo isotipo di Ig o livelli di poco inferiori al 3° centile di IgG.

In generale, valori di IgG <200 mg/dl in un bambino di età >2 anni devono sempre far sospettare una IDP umorale importante (in particolare una CVI o una XLA) e devono indurre a richiedere una valutazione immunologica finalizzata anche a iniziare una terapia sostitutiva. Nei casi con livelli ridotti di tutti gli isotipi delle Ig è consigliabile sempre eseguire un dosaggio delle proteine totali e dell’albumina per escludere una ipogammaglobulinemia secondaria (soprattutto da cause renali o enteropatie proteino-disperdenti). Per quanto detto sopra, nelle IDP di tipo “disregolatorio” o nei deficit dell’immunità innata o della funzione fagocitaria i livelli di Ig possono essere normali o addirittura elevati.

Qui di seguito accenneremo brevemente a indagini che, in letteratura, sono considerate di secondo livello e che verranno affrontate in maniera più diffusa nel capitolo successivo. Queste indagini possono essere eseguite anche in Centri di primo livello (o addirittura in laboratori privati) e, quindi, possono essere richieste con relativa facilità anche dal pediatra. Questa possibilità può rappresentare sicuramente un vantaggio, ma viene raccomandata estrema prudenza nell’interpretazione del dato di laboratorio e, in ogni caso, il riferimento del paziente a un Centro di III livello.

Immunofenotipo linfocitario: può essere di completamento quando gli esami di primo livello sono indicativi di IDP. Va detto che è uno degli esami più richiesti, ma spesso i risultati sono paradossalmente fuorvianti e l’interpretazione deve essere fatta da pediatri immunologi esperti.

Dosaggio di anticorpi specifici: la determinazione dei titoli anticorpali specifici verso antigeni vaccinali o frutto di esposizione naturale rappresenta un’indagine di estrema importanza nel valutare la capacità dell’individuo di elaborare un’adeguata risposta anticorpale. Le indicazioni per un primo livello sono tuttavia veramente limitate, no-

nostante l'esame non necessiti di particolari *expertise* e possa essere richiesto presso i laboratori della maggior parte degli ospedali.

Nei soggetti che sono stati regolarmente vaccinati la presenza di anticorpi anti-tetano, anti-difterite e anti-HBsAg indica la capacità di montare una risposta anticorpale adattativa verso antigeni (Ag) proteici, mentre la presenza di anticorpi specifici anti-*Haemophilus* e anti-Pneumococco sono indizio di risposta verso Ag polisaccaridici.

Va tuttavia tenuto presente che bassi livelli anticorpali specifici, rilevati in un momento troppo ravvicinato o, al contrario, troppo distante dalla vaccinazione, non sempre riflettono un'incapacità di elaborare risposte anticorpali valide. Di maggiore significato è invece il mancato incremento di 4 volte rispetto al basale del titolo anticorpale in un prelievo ripetuto dopo 3-4 settimane dalla somministrazione di una dose *booster* del vaccino.¹¹

Quando può essere utile nella valutazione di primo livello il dosaggio di anticorpi specifici? Sostanzialmente quando i livelli di Ig sono normali pur in presenza di una sintomatologia infettiva ricorrente. Infatti, se i titoli anticorpali risultano ridotti verso Ag batterici o virali, soprattutto polisaccaridici, possono indicare una IDP nota come **deficit di anticorpi specifici con normali livelli di Ig**. Per il resto, in presenza di alterati valori di isotipi IgG, la valutazione è da considerarsi di secondo livello.

Dosaggio delle sottoclassi IgG: ha scarso significato in un inquadramento iniziale e ormai sappiamo che i difetti di sottoclasse semmai accompagnano altre alterazioni immunologiche e i difetti isolati sono davvero molto rari. Il dosaggio delle sottoclassi di IgG, in generale, non è ritenuto utile prima dei 3 anni, motivo per cui qui ne accenneremo solo brevemente.

Normali valori di Ig non escludono un **deficit di sottoclassi IgG** (DScIgG). Si distinguono 4 sottoclassi di IgG (IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4) in ordine decrescente di rappresentazione nel siero. Alcuni individui con infezioni ricorrenti, soprattutto respiratorie, possono presentare livelli ridotti di una o più sottoclassi IgG, spesso associati a un difetto di risposta verso Ag polisaccaridici come quelli di batteri capsulati (meningococco, pneumococco e *Haemophilus*). Poiché le IgG1 ricoprono il 60-70% di tutte le IgG, valori ridotti di IgG1 si associano a un deficit di IgG totali (come accade per esempio nella CVID o nella XLA). Viceversa, quando sono deficitarie le IgG2 e le IgG3 i livelli di IgG totali possono essere normali. L'esistenza comunque del DScIgG come entità autonoma è attualmente molto discussa, in quanto numerosi casi di DScIgG (alla stregua del DIgA) sono asintomatici e i casi associati a sintomi sono ritenuti tali in quanto legati a un deficit di risposta anticorpale specifica. Pertanto viene ritenuto più utile valutare quest'ultima, reale indice della capacità del paziente di elaborare risposte anticorpali valide, piuttosto che dosare le singole sottoclassi. Va anche ricordato che le IgG4 sono fisiologicamente indosabili sotto i 10 anni e che i livelli di IgG2 risultano molto ridotti sotto i 3 anni.

Conclusioni

Pochi esami, cosiddetti di primo livello (emocromo, dosaggio delle Ig e degli anticorpi specifici), consentono al pediatra di identificare le IDP più frequenti. Ciò nonostante, la normalità degli esami di I livello non consente di escludere una IDP non convenzionale e, soprattutto, un deficit delle funzioni fagocitiche e dell'immunità innata. Come in quasi tutte le patologie è essenziale, pertanto, che le informazioni fornite dagli esami di I livello vengano integrate con il quadro clinico. I passi successivi, in caso di alterazioni significative delle indagini di laboratorio e in presenza di un'anamnesi significativa, sono: avviare il paziente verso un Centro specializzato in grado di confermare la diagnosi, instaurare, ove possibile, una terapia eziologica e mantenere un corretto follow-up in stretto sinergismo con il pediatra curante.

In Tabella 5 sono indicati alcuni schemi di ausilio pratico per il pediatra nell'interpretazione degli esami immunologici di I livello.

Tabella 5. Bambino con sospetta IDP. Interpretazione degli esami immunologici di I livello.

Elettroforesi Sieroproteine	↓	γ globuline	→	perdita, ritardata o mancata produzione
Immunoglobuline Sieriche	↓	IgG		XLA
	↓	IgA	→	CVID
	↓	IgM		Ipogammaglobulinemia transitoria
	↓	IgG	→	HIGM (↑ IgM)
	↓	IgA		CVID
				Ipogammaglobulinemia transitoria
Immunoglobuline Sieriche	↓	IgA	→	Deficit selettivo IgA
Emocromo				Shwachman-Diamond
	↓	→		Kostmann
				Granulocitopenia ciclica cronica benigna
Neutrofili				
	↑	→		LAD
Linfociti	↓	→		SCID
Piastrine	↓	→		WAS



KEYPOINTS

- A oggi sono note circa 300 IDP, di cui sono noti, nella gran parte, i meccanismi molecolari.
- Pochi esami, cosiddetti di primo livello (emocromo, dosaggio delle Ig e degli anticorpi specifici), consentono al pediatra di identificare le IDP più frequenti.
- Il dosaggio delle immunoglobuline, ed eventualmente degli anticorpi specifici, consente l'identificazione delle immunodeficienze umorali, che sono le più frequenti.
- La normalità degli esami di I livello non consente di escludere una IDP non convenzionale e, soprattutto, una IDP da difetto funzionale.

Bibliografia

1. <http://esid.org/Working-Parties/Registry/ESID-Database-Statistics>.
2. Seymour B, Miles J, Haeney M. Primary antibody deficiency and diagnostic delay. *J Clin Pathol* 2005; 58(5): 546-7.
3. Bousfiha A et al. The 2015 IUIS Phenotypic Classification for Primary Immunodeficiencies. *J Clin Immunol* 2015; 35(8): 727-38.
4. Picard C et al. Primary Immunodeficiency Diseases: an Update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee for Primary Immunodeficiency 2015. *J Clin Immunol* 2015; 35(8): 696-726.
5. Routes J et al. ICON: The Early Diagnosis of Congenital Immunodeficiencies. *J Clin Immunol* 2014; 34: 398-424.
6. Locke BA, Dasu T, Verbsky JW. Laboratory Diagnosis of Primary Immunodeficiencies. *Clinic Rev Allerg Immunol* 2014; 46: 154-68.
7. Duse M et al. Immunologia e Allergologia. In Bonamico M: *Manuale di Pediatria*. Esculapio Editrice, 2009, pg 191-214.
8. Bonilla FA et al. Practice parameter for the diagnosis and management of primary immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2015; 136: 1186-205.
9. Ladomenou F, Gaspar B. How to use immunoglobulin levels in investigating immune deficiencies. *Arch Dis Child Educ Pract Ed* 2016; 101: 129-35.
10. Ugazio AG et al. *Il bambino immunodepresso. Perché lo è e come va difeso*. 2^a Ed., Casa Editrice Ambrosiana, Milano 1995.
11. Cardinale F et al. Immunodeficienze primitive. In Cardinale F, Nettis E. "Manuale di Allergologia, Immunologia e Broncopneumologia Pediatrica". Edizioni FRI Communication Div. HealthCare, Firenze 2013, pg 141-147.

LE INDAGINI DI “SECONDO LIVELLO”

A. Pession, R. Badolato, B. Martire, A. Castellazzi

Nel sospetto clinico di immunodeficienza gli esami immunologici che possono essere definiti “di primo livello”, come esposto nel capitolo precedente, sono l'emocromo con formula leucocitaria e il dosaggio delle immunoglobuline. Sulla base dei risultati di queste analisi si può passare in un secondo momento a una diagnostica definita di “secondo livello”, che prevede la valutazione delle diverse sottopopolazioni linfocitarie, test funzionali e, eventualmente, a indagini molecolari e/o genetiche che appartengono a un “terzo livello”.

Le indagini di primo livello possono essere eseguite nella maggior parte dei laboratori e degli ospedali, mentre quelle di secondo e terzo livello sono disponibili nei laboratori o negli ospedali dotati di sofisticate attrezzature laboratoristiche e immunologiche.

Indagini di secondo livello

Alcune indagini di secondo livello sono, in realtà, “a ponte” tra primo e secondo livello e, a seconda del sospetto diagnostico, età, segni e sintomi, possono essere indicate sia in prima battuta sia nelle più fini definizioni del secondo livello.

Livelli di IgD e IgE – Livelli eccessivamente alti o bassi possono essere presenti nelle sindromi da deficit anticorpali parziali.

I livelli delle IgE sono elevati nei disordini della chemiotassi, nelle immunodeficienze T-cellulari parziali, nelle malattie allergiche e nelle parassitosi. Pazienti che presentano livelli di IgE notevolmente elevati (>2.000 UI/ml) possono essere affetti da sindrome da Iper-IgE, che comprende un gruppo di immunodeficienze sindromiche caratterizzate da dermatite cronica pruriginosa, infezioni recidivanti superficiali e profonde della cute e dei polmoni da germi piogeni (soprattutto da *S. Aureus*). I pazienti affetti dalla forma autosomica recessiva presentano anche linfopenia e suscettibilità a virus cutanei, mentre i pazienti con forma autosomica dominante (Sindrome di Job) possono presentare disodontiasi, pneumatocele, alterazioni scheletriche e *facies* con tratti grossolani nell'età adulta. Altre immunodeficienze che possono associarsi a livelli aumentati di IgE sono la Sindrome di Omenn, IPEX, la Sindrome di Wiskott-Aldrich, la Sindrome di DiGeorge e la Sindrome di Netherton.

Livelli sierici elevati di IgD frequentemente associati anche a un aumento delle IgA sono stati descritti nella iperimmunoglobulinemia D con febbre periodica (HIDS), una rara malattia autoinfiammatoria a trasmissione autosomica recessiva, dovuta a mutazioni del gene della mevalonato chinasi (MVK), caratterizzata da attacchi febbrili periodici e da una reazione infiammatoria sistemica (linfadenopatia cervicale, dolore addominale, vomito, diarrea, artralgia e segni cutanei).

Dosaggio anticorpale specifico – La capacità di produrre una risposta adeguata da parte del sistema immunitario in seguito a un determinato stimolo come la vaccinazione costituisce di per sé un'indagine semplice ma molto informativa. Uno dei criteri addizionali per la diagnosi di Immunodeficienza Comune Variabile (CVID), per esempio, è la dimostrata risposta anticorpale difettiva contro tetano e/o pneumococco. Altro parametro utile, in età superiore a 1-2 anni di vita, è la titolazione dei valori delle isoemoagglutinine. Sono anticorpi di tipo IgM rivolti verso gli antigeni polisaccaridici naturali del sistema ABO presenti sui globuli rossi. La titolazione delle isoemoagglutinine è rilevante in quanto può essere considerata come l'espressione della risposta anticorpale IgM-mediata.

Autoanticorpi – In particolare nei difetti umorali, come deficit di IgA e CVID, caratterizzati da particolare frequenza di fenomeni autoimmuni, può essere necessario effettuare controlli del pannello autoanticorpale. In più del 25% dei casi di CVID sono presenti fenomeni autoimmuni come l'insorgenza di porpora trombocitopenica idiopatica (PTI) o anemia emolitica autoimmune o entrambe (Sindrome di Evans) o, più raramente, neutropenia autoimmune. Oltre agli autoanticorpi non organo-specifici (ANA, ENA, ecc.) a seconda delle manifestazioni cliniche può essere importante ricercare anticorpi organo-specifici, anti-piastrine, anti-neutrofili ed eseguire il test di Coombs.

Sottopopolazioni linfocitarie e test funzionali - Incrementi e riduzioni nel numero assoluto o relativo di linfociti T, B e NK caratterizzano le diverse immunodeficienze. Le varie popolazioni linfocitarie vengono studiate attraverso l'uso di anticorpi monoclonali diretti, verso proteine di superficie cellulare, mediante la metodica denominata citometria a flusso. Le proteine riconosciute vanno sotto il nome di CD, Cluster di Differenziazione. Ciascuna molecola è caratterizzata per il suo riconoscimento da un certo numero di anticorpi monoclonali ("cluster") e l'attribuzione di un numero (CD1, CD2, etc. cioè la nomenclatura ufficiale delle molecole espresse alla superficie di tutte le cellule) viene effettuata nel corso di una conferenza di consenso. Ogni CD corrisponde ad una proteina avente delle specifiche funzioni.

L'analisi citofluorimetrica delle varie sottopopolazioni linfocitarie è la metodica più diffusamente impiegata per quantificare in termini numerici la distribuzione delle varie sottopopolazioni linfocitarie (CD3, CD4, CD8, CD19, CD16 e CD56), il loro stato di attivazione prima e dopo stimolo (CD38, CD25, CD69, CD40L e HLA-DR) nonché le sottopopolazioni naïve e memoria T e B (identificate rispettivamente sulla base dell'espressione di CD45RO, CD45RA e CD27). È inoltre importante la valutazione numerica di popolazioni linfocitarie meno rappresentate in percentuale ma di notevole importanza per la diagnosi di alcuni quadri specifici di immunodeficienza, quali per esempio le cellule T-regolatorie (CD4+ CD25hi Foxp3+) o le cellule T doppie negative (CD3+/TCR alpha-beta+/ CD4- /CD8-) per la diagnosi di ALPS. Nella Tabella 1 riportiamo i *cluster* utili all'identificazioni delle principali sottopopolazioni linfocitarie.

Tabella 1. Caratterizzazione citofluorimetrica delle principali popolazioni linfocitarie

POPOLAZIONE	CD3	CD4	CD8	CD19	CD16/CD56	CD45
Linfociti B	-	-	-	+	-	+
Linfociti T CD4	+	+	-	-	-	+
Linfociti T CD8	+	-	+	-	-	+
Linfociti NK	-	-	-	-	+	+

- **Deficit di linfociti T:** il più utile fra i test avanzati per la valutazione dell'immunodeficienza cellulare è la conta dei linfociti T e delle sottopopolazioni T-linfocitarie. La percentuale dei linfociti T viene determinata utilizzando un anticorpo diretto contro un antigene comune a tutte le cellule T (per es. anti-CD3, anti-CD2). L'anticorpo anti-CD4 identifica le cellule T helper/inducer, l'anti-CD8 le popolazioni di cellule suppressor/citotossiche, mentre l'anti-CD25 (catena α del recettore per IL-2) identifica i linfociti T attivati. I linfociti natural killer (NK) sono invece identificabili per l'espressione in membrana di CD16 (Fc γ RIII, recettore a bassa affinità per il frammento Fc delle IgG, espresso anche da polimorfonucleati e monociti), di CD56 (espresso anche da alcuni linfociti T attivati) o di CD57 (antigene HNK1, che individua una sottopopolazione maggioritaria di cellule NK). Molto importante è anche la determinazione degli antigeni CD45RA e CD45RO; la molecola CD45RO è espressa dai linfociti T (sia CD4 che CD8) "della memoria", che hanno quindi già incontrato l'antigene, mentre CD45RA è espresso dai linfociti T vergini. Nei primi mesi di vita la maggioranza dei linfociti T è di tipo naïve, ma si riduce nel corso dell'accrescimento, mentre l'opposto avviene per i linfociti T di memoria. Una delle applicazioni cliniche della determinazione delle sottopopolazioni T-linfocitarie è rappresentata dal monitoraggio dei pazienti con infezione da HIV nei quali il patogeno provoca una graduale e progressiva riduzione dei linfociti T CD4 circolanti. Un numero di cellule T helper (CD4) <500 cellule/mcl è fortemente indicativo di un'immunodeficienza T-cellulare mentre un numero di CD4 <200 cellule/mcl indica una grave immunodeficienza a carico delle cellule T. Tuttavia, una valutazione precisa deve essere effettuata sulla base dell'età del bambino. Il rapporto tra cellule CD4/CD8 (helper/suppressor) deve essere >1,0; l'inversione di questo rapporto suggerisce anch'essa la presenza di un'immunodeficienza (Tabella 2). Nell'ambito dello studio di pazienti con possibile immunodeficienza primitiva, l'analisi delle sottopopolazioni linfocitarie permette di sospettare le diverse forme prima di procedere alle analisi genetiche. Per esempio, all'esordio della sindrome di Omenn nei primi mesi di vita tutti i linfociti T sono di tipo *memory*, nonostante a quell'età ci si aspetti una netta prevalenza dei linfociti T di tipo naïve. Questo tipo di sbilanciamento tra linfociti T naïve e memory si osserva in altre forme di immunodeficienza combinata. Ai fini di una più precisa analisi dei pazienti con immunodeficienza primitiva, è utile valutare la capacità dei linfociti del paziente di proliferare e di ingrandirsi (trasformarsi) quando vengono coltivati in presenza di fattori

di crescita/segnale extracellulare capaci di indurre la duplicazione e la proliferazione cellulare, denominati mitogeni (fitoemoagglutinina, concanavalina A); di GB allogeneici irradiati (nella reazione leucocitaria mista); o di antigeni con i quali il paziente sia venuto a contatto in precedenza. La rilevazione della risposta (rapida divisione cellulare) dopo stimolo può essere fatta con metodi morfologici o mediante la captazione di timidina radioattiva all'interno delle cellule in divisione. L'indice di proliferazione viene espresso dal rapporto tra la conta/min delle cellule stimolate e la conta/min di un numero equivalente di cellule non stimolate. I pazienti affetti da immunodeficienza T-cellulare presentano risposte proliferative ridotte o nulle in proporzione al grado di deficit immunitario. È utile ricordare che le risposte proliferative ai mitogeni (che attivano tutte le cellule) sono molto più elevate (indice di stimolazione fra 50 e 100) rispetto alla risposta agli antigeni o alle cellule allogeneiche (indice di stimolazione fra 3 e 30).

Tabella 2. Sottopopolazioni linfocitarie nel sangue periferico ($\times 10^9/L$) in rapporto all'età

	Neonato	1 sett- 2 mesi	2-5 mesi	5-9 mesi	9-15 mesi	15-24 mesi	2-5 anni	5-10 anni	10-16 anni	Adulto
Linfociti	4,8 (0,7-7,3)	6,7 (3,5-13)	5,9 (3,7-9,6)	6,0 (3,8-9,9)	5,5 (2,6-10,4)	5,6 (2,7-11,9)	3,3 (1,7-6,9)	2,8 (1,1-5,9)	2,2 (1-5,3)	1,8 (1-2,8)
CD3+	2,8 (0,6-5)	4,6 (2,3-7)	3,6 (3,3-6,5)	3,8 (2,4-6,9)	3,4 (1,6-6,7)	3,5 (1,4-8)	2,3 (0,9-4,5)	1,9 (0,7-4,2)	1,5 (0,8-3,5)	1,2 (0,7-2,1)
CD3+/CD4+	1,9 (0,4-3,5)	3,5 (1,7-5,3)	2,5 (1,5-5)	2,8 (1,4-5,1)	2,3 (1-4,6)	2,2 (0,9-5,5)	1,3 (0,5-2,4)	1 (0,3-2)	0,8 (0,4-2,1)	0,7 (0,3-1,4)
CD3+/CD8+	1,1 (0,2-1,9)	1 (0,4-1,7)	1 (0,5-1,6)	1,1 (0,6-2,2)	1,1 (0,4-2,1)	1,2 (0,4-2,3)	0,8 (0,3-1,6)	0,8 (0,3-1,8)	0,4 (0,2-1,2)	0,4 (0,2-0,9)
CD3+/HLADR	0,09 (0,03-0,4)	0,3 (0,03-3,4)	0,2 (0,07-0,5)	0,2 (0,07-0,5)	0,2 (0,1-0,6)	0,3 (0,1-0,7)	0,2 (0,08-0,4)	0,2 (0,05-0,7)	0,06 (0,02-0,2)	0,09 (0,03-0,2)
CD3- /CD16/56	1 (0,1-1,9)	0,5 (0,2-1,4)	0,3 (0,1-1,3)	0,3 (0,1-1)	0,4 (0,2-1,2)	0,4 (0,1-1,4)	0,4 (0,1-1)	0,3 (0,09-9)	0,3 (0,1-1,2)	0,3 (0,1-0,6)
CD19+ B	0,6 (0,04-1,1)	1 (0,6-1,9)	1,3 (0,6-3)	1,3 (0,7-2,5)	1,4 (0,6-2,7)	1,3 (0,6-3,1)	0,8 (0,2-2,1)	0,5 (0,2-1,6)	0,3 (0,2-0,6)	0,2 (0,1-0,5)

(Tratta da Le linfopenie nel Bambino, Medico e bambino 2015)

Alla valutazione della proliferazione dopo stimolo deve però associarsi anche una determinazione della produzione di citochine dopo stimolazione con mitogeni o antigeni. Le citochine solitamente determinate sono l'interferone gamma, l'interleuchina 2, l'interleuchina 4 e il *Tumor Necrosis Factor alfa*. La produzione di citochine può essere rilevata utilizzando test immunoenzimatici specifici, che consentono di quantizzare le citochine prodotte nel sovrantante delle colture cellulari, o mediante tecnica di **ELISPOT** computerizzato, che rileva la produzione di una certa citochina a livello di singola cellula stimolata. La capacità di sintetizzare una citochina è anche documentabile mediante la dimostrazione della sua presenza nel citoplasma delle cellule attivate; questo è possibile su cellule in sospensione con la citofluorimetria utilizzando anticorpi specifici verso le diverse citochine e aggiungendo al sistema sostanze che inibiscono la



secrezione al di fuori delle cellule delle proteine prodotte. Alcuni pazienti presentano risposte proliferative adeguate ma una produzione insufficiente di citochine. Molti di questi test funzionali sono attuabili solo presso Centri di ricerca.

- **Deficit di linfociti B:** l'analisi citofluorimetrica permette anche di effettuare una valutazione quantitativa e qualitativa e, quindi, dello stadio maturativo dei linfociti B, utile anche nella determinazione di un quadro di immunodeficienza combinata T e B cellulare. In particolare, le sottopopolazioni dei linfociti B vengono distinte in base all'espressione di specifiche molecole di superficie quali il CD19, il CD20 e il CD22. Generalmente il marker di superficie principalmente utilizzato è il CD19, in quanto espresso su tutti i linfociti B circolanti, e una volta isolate le cellule CD19+, l'espressione di altre molecole di superficie, quali IgM, IgD, il CD27 e il CD38, permette di discriminare i diversi sottotipi di linfociti B. Le cellule B mature naïve esprimono solo le IgM e IgD in superficie, mentre dopo l'incontro con l'antigene e la conseguente attivazione esprimono il CD27 trasformandosi quindi in "*memory B cells*", a loro volta distinte in "*unswitched*" e "*switched*" sulla base dell'espressione o meno delle IgD di superficie. Le differenze di espressione dei sottotipi di cellule B possono aiutare a chiarire il meccanismo alla base del difetto anticorpale e permettere di riconoscere condizioni di ipogammaglobulinemia transitoria rispetto all'immunodeficienza comune variabile. Ridotti valori di linfociti B totali possono essere il risultato di un difetto della differenziazione precoce, mentre bassi valori di *switched memory B cells* possono riflettere un difetto del centro germinativo.

Vi sono casi specifici in cui la sola conta della percentuale di cellule B è già molto informativa. Per esempio, è possibile la diagnosi di agammaglobulinemia X-linked o autosomica recessiva quando i linfociti B circolanti sono <2%, così come i ridotti valori

di *switched memory B cells* contribuiscono a identificare i pazienti con COVID. Nel difetto selettivo di IgA, l'immunofenotipo è generalmente normale, mentre la persistenza oltre i 2 anni di un difetto di *memory B cells* rappresenta un fattore predittivo di evoluzione di una ipogammaglobulinemia transitoria dell'infanzia verso una COVID. In altri casi, invece, la conta delle cellule B deve essere interpretata attentamente integrando le analisi dei livelli sierici delle immunoglobuline dei titoli anticorpali specifici (vedi dosaggio anticorpale specifico).

Test di citotossicità – Le diverse forme di citotossicità (*natural killer*, anticorpo-dipendente o delle cellule T citotossiche) vengono misurate utilizzando diverse cellule tumorali o cellule bersaglio infettate da virus. I deficit della citotossicità sono presenti in vario grado nelle immunodeficienze cellulari. Un risultato patologico può essere dovuto in rari casi a un difetto numerico di queste cellule; nel maggior parte dei casi si ha un difetto di rilascio dei granuli liti (degranolazione), o un difetto nella produzione di molecole citolitiche, come la perforina. Il test di citotossicità usato prevalentemente nel passato era basato su un metodo di analisi del rilascio di Cr51. Attualmente si preferisce usare il test di degranolazione basato sull'analisi di espressione di CD107a. A questo si affianca generalmente l'analisi di espressione della perforina attraverso tecniche di citofluorimetria. I test di citotossicità e/o l'espressione di perforina sono generalmente alterati nelle sindromi linfocitarie emofagocitiche (HLH), tanto che il deficit di attività NK costituisce uno dei criteri diagnostici di HLH. Le sindromi linfoproliferative X-recessive possono manifestarsi come HLH, ma in queste forme l'analisi della semplice attività citotossica NK risulta normale, cosicché la loro diagnosi si basa su test genetici.



Test funzionale di apoptosi – Altri test possono indagare funzioni più complesse, come la capacità di rispondere a stimoli apoptotici. Il test funzionale di apoptosi indaga l'integrità della via di segnale del FAS su linfociti attivati e dà risultati patologici in presenza di mutazioni dei geni codificanti per FAS, FAS-ligando e per altre proteine coinvolte in questa via (CASP8 e CASP10). Mutazioni in eterozigosi di uno di questi geni sono responsabili della sindrome linfoproliferativa autoimmune (ALPS), disordine della immunoregolazione che si manifesta con linfadenopatia, splenomegalia e/o citopenie autoimmuni. A causa della grande variabilità del test di apoptosi, il suo utilizzo diagnostico si è molto ridotto. Infatti, nei soggetti con sospetta ALPS, si procede generalmente con l'analisi dei linfociti CD3+/TCRab+/CD4-/CD8-, il dosaggio dei livelli plasmatici di vitamina B12 e l'analisi genetica.

La tipizzazione HLA – Può essere di valido aiuto per distinguere quelle forme di immunodeficienze in cui vi sia attecchimento di antigeni materni (**maternal engraftment**) dalla sindrome di Omenn. Infatti, l'analisi del HLA permette di riconoscere la popolazione linfocitaria di origine materna sulla base dell'espressione degli antigeni di HLA. Inoltre, lo studio di espressione degli antigeni HLA di classe I e II permette di identificare alcune specifiche forme di immunodeficienza caratterizzate da mancata espressione degli antigeni HLA, come si osserva nei deficit di classe I o nei deficit di classe II (sindrome del linfocita nudo).

La determinazione dell'integrità del T-cell receptor e della via di trasduzione del segnale – Questi studi hanno consentito l'identificazione di alcuni difetti dell'attivazione delle cellule T e ne permettono la loro valutazione funzionale. In alcune forme di immunodeficienza combinata sono carenti gli enzimi della via metabolica delle purine (adenosina deaminasi, nucleoside fosforilasi), che possono essere determinati attraverso l'analisi delle relative attività enzimatiche nei GR oppure con il dosaggio dei metaboliti tossici. Tutti questi test sono eseguiti in laboratori specializzati.

Test per i deficit delle cellule fagocitarie – L'ulteriore step diagnostico di secondo livello prevede lo studio delle funzioni dei fagociti: **adesione, chemiotassi, fagocitosi e "killing" intracellulare**. Come sempre, anche in questo caso alcuni difetti sono suggeriti da un sospetto clinico mirato e basato su anamnesi particolari.

Un difetto di chemiotassi può essere per esempio suggerito dalla mancata formazione di pus nella sede di un'infiammazione o, ad esempio, da un ritardo della caduta del cordone ombelicale accompagnato da leucocitosi marcata. Un gruppo di immunodeficienze primitive del sistema fagocitario su base genetica è causato da difetti nella capacità di queste cellule di aderire all'endotelio (LAD - Difetto di Adesione Leucocitaria). La diagnostica di queste forme si basa sull'analisi in citofluorimetria delle molecole di adesione presenti sui granulociti neutrofili e sui monociti. Il CD18 costituisce la catena $\beta 2$ comune di tre diverse molecole eterodimeriche di adesione della membrana leucocitaria, nelle quali si associa una specifica catena α (rispettivamente CD11a, CD11b e CD11c).

La diagnosi differenziale fra LAD-I, LAD-II e LAD III si basa sull'analisi in citofluorimetria dell'espressione di CD18 e, presso laboratori di ricerca, su test di adesione granu-

locitaria a cellule endoteliali attivate. I granulociti di pazienti con LAD-I non esprimono o esprimono bassi livelli di CD18 sulla superficie cellulare e aderiscono male alle cellule endoteliali. I granulociti dei pazienti con LAD-II esprimono normalmente CD18, ma mostrano un'anomala adesione a cellule endoteliali attivate da IL-1. Anticorpi diretti contro la sialil-Lewis X (CD15) possono essere usati in citofluorimetria per la quantificazione della proteina. Il deficit di CD15 sulla membrana dei leucociti affetti da LAD-II determina un difetto nella fase di interazione debole (*rolling*) tra leucociti ed endotelio che è mediata dalle selectine. Nel LAD di tipo III si osserva, oltre a leucocitosi, anche aumentato rischio di sanguinamenti per difetto della funzionalità delle integrine nelle piastrine. Per l'analisi di LAD II e LAD III è spesso necessario ricorrere a esami genetici indirizzati a valutare rispettivamente i geni SLC35C1 e FERMT3.

In seguito alla fagocitosi del microrganismo, la cellula attiva particolari meccanismi biochimici finalizzati all'uccisione del patogeno; alcuni di questi sono misurabili. Per esempio la funzionalità della nicotin-amide dinucleotide-fosfato-ridotto (NADPH) ossidasi attivata in conseguenza della fagocitosi può essere valutata mediante misurazione del consumo di O_2 (con elettrodo di Clark) o rilevazione in chemiluminescenza o mediante spettrofotometro dei prodotti reattivi dell'ossigeno formati.

Test del nitro blue tetrazolium (NBT) – È un test semiquantitativo. In condizioni normali, in presenza di superossido, l'NBT, che ha un colore giallo e solubile, viene ridotto a formazano, reagente blu scuro e insolubile che precipita nelle cellule fagocitiche precedentemente attivate con stimoli solubili (PMA) o particolati: particelle opsonizzate con Zimosan o N-formilmethionil-fenilalanina (fMLP) o batteri (*E. Coli*). Nella Malattia Granulomatosa Cronica (CGD) non si forma il superossido e pertanto non avviene la riduzione del NBT a formazano.

Citofluorimetria a flusso con diidrorodamina 123 (DHR) – È un test quantitativo. Si basa sull'impiego del DHR come substrato fluorescente rivelatore dell'attività ossidativa. Questo test ha il vantaggio di una elevata sensibilità e può essere eseguito sul sangue in toto anche a distanza di 24 ore dal prelievo. In molti laboratori questo test ha ormai sostituito l'NBT.

Questo test andrebbe eseguito in tutti i pazienti con infezioni piogeniche ricorrenti, accessi profondi, osteomieliti da germi saprofiti (come *Aspergillus*, *Nocardia* e *Klebsiella*), ma anche in pazienti con malattia infiammatoria dell'intestino a esordio precoce, tutte condizioni che possono essere spie di esordio della CGD.

Test per i deficit del complemento – La presenza di un'alterazione a carico del complemento viene valutata inizialmente misurando l'attività complementare totale del siero (CH50) e i livelli sierici di C3 e C4. Il riscontro di bassi livelli di uno qualunque di questi parametri deve essere seguito dalla titolazione della via classica e della via alternativa del complemento e dal dosaggio dei singoli componenti complementari. Per misurare i componenti complementari si utilizzano antisieri mono-specifici o GR sensibilizzati e soluzioni che contengono tutti i componenti tranne quello da determinare.

Sono disponibili antisieri anche per la determinazione delle proteine regolatrici del

complemento. Il deficit di C1-inibitore è alla base dell'edema angioneurotico ereditario e il deficit di fattore I (C3-inibitore) è associato al deficit di C3 con ipercatabolismo del C3. Per valutare la funzione del complemento in modo indiretto si possono impiegare i test di attività opsoninica, chemiotattica o battericida del siero.

Indagini di terzo livello

Le indagini di terzo livello non sono altro che le **analisi molecolari** che consentono di valutare la presenza di una mutazione in un gene candidato, generalmente in tempi brevi se il gene è noto. L'identificazione del difetto genetico responsabile permette di effettuare una diagnosi definitiva e soprattutto di fornire alla famiglia un adeguato counselling genetico.

La richiesta del test genetico deve essere motivata dal sospetto clinico, spesso avvalorato dagli esami di laboratorio. Allora lo specialista può richiedere il sequenziamento genico di un singolo gene o di una lista di geni le cui mutazioni possano spiegare il quadro clinico e immunologico. A titolo esemplificativo, è il caso del bambino con piastrinopenia e micropiastrine che evoca il sospetto di Sindrome di Wiskott-Aldrich e la richiesta di genetica del gene *WASP* o quello del bambino con agammaglobulinemia e assenza dei linfociti B, in cui il sospetto di agammaglobulinemia di Bruton induce a richiedere l'analisi di *BTK*. L'analisi molecolare di un singolo gene si può effettuare con tecniche diverse, ma la più diffusa è il sequenziamento diretto secondo Sanger, o sequenziamento capillare, basato sull'uso di nucleotidi modificati per interrompere la reazione di allungamento del DNA. A questa tecnica si è aggiunta più recentemente l'analisi di **sequenziamento parallelo** (anche noto come *next generation sequencing*, NGS o *deep sequencing*) che permette di sequenziare decine di geni contemporaneamente, o al limite l'intera porzione codificante del genoma (esoma). Questo ha permesso di sviluppare l'analisi di gruppi di geni associati a diverse forme di immunodeficienza, come per esempio analisi dei geni associati a linfopenia, ipogammaglobulinemia ecc. Sulla base del calcolo dei costi sanitari e dei benefici per il paziente si può ritenere che, quando manchi il sospetto di una specifica condizione di immunodeficienza, sia opportuno analizzare le liste di geni associati a quella forma di immunodeficienza (*target sequencing*). Qualora le strategie di analisi genetica sin qui descritte risultino non adeguate, si può effettuare analisi di sequenziamento massivo del genoma (sia nella sua interezza che solo nella parte codificante come l'esoma). Tuttavia, l'esecuzione e l'interpretazione di queste indagini devono essere effettuate nell'ambito di programmi di ricerca. Alle indagini genetiche possono seguire le indagini di analisi dell'espressione dell'RNA messaggero (mRNA) e/o della proteina, qualora vi siano dei dubbi sul possibile significato delle mutazioni identificate.

In alcune specifiche forme di immunodeficienze, come quelle associate a linfopenia, l'effettuazione di alcune indagini molecolari come la **quantificazione dei TRECS** (*T-cell receptor excision circles*) nel sangue circolante può essere utile per la valutazione della

funzionalità timica. I TRECS, infatti, sono frammenti di DNA in forma circolare che vengono generati nei timociti nel corso del riarrangiamento dei geni *VDJ* e che rimangono all'interno dei linfociti T. Pertanto, la loro quantificazione permette di stimare indirettamente la capacità del timo di rilasciare nuovi linfociti T. Per la diagnosi di determinate sindromi associate a immunodeficienza che si caratterizzano per alterazioni citogenetiche, come per esempio la Sindrome di DiGeorge, si può procedere ad analizzare il cariotipo molecolare mediante tecnica **Array-CGH** oppure, quando esista un sospetto di una precisa alterazione citogenetica, a ricercare delezioni e/o duplicazioni attraverso la tecnica di **Fluorescent In Situ Hybridization** (FISH). Per la richiesta e l'interpretazione di questi test è necessario che il pediatra si avvalga di una consulenza genetica.

Screening neonatale

Per dare un senso a uno screening neonatale è necessario che la patologia da individuare sia già rilevabile alla nascita, abbia un elevato grado di morbilità e mortalità e un'incidenza significativa nella popolazione. Deve inoltre esistere un test per individuarla che sia altamente specifico e una terapia in grado di modificarne il decorso clinico una volta effettuata la diagnosi precoce.

Nell'ambito delle immunodeficienze primitive, le *severe combined immunodeficiencies* (SCID) costituiscono un gruppo di malattie genetiche con incidenza di 1/50.000 con un decorso invariabilmente fatale in assenza di trapianto di cellule staminali ematopoietiche (TCSE). L'analisi dei fattori condizionati il successo del trapianto in bambini affetti da SCID ha evidenziato che quando questo venga effettuato entro i tre mesi di vita e in assenza di infezioni in atto, l'evoluzione clinica è molto più favorevole. Pertanto, in molti Paesi occidentali sono stati avviati programmi di screening neonatale basati sulla analisi attraverso lo studio dei TRECS su dried blood spot (DBS). La sperimentazione di questo screening negli Stati Uniti ha permesso di evidenziare che questa tecnica ha una buona sensibilità per permettere l'identificazione precoce della maggior parte delle forme di SCID. Tuttavia, sono possibili falsi positivi per ragioni tecniche, o altre condizioni quali la prematurità, che richiedono un richiamo del bambino sospetto ed esecuzione delle sottopopolazioni linfocitarie ed eventualmente delle indagini genetiche. Nell'ambito delle SCID, vi sono due forme che ne costituiscono circa il 10%, causate da mutazioni in omozigosi di *ADA* (ADA-SCID) o di *PNP* (PNP-SCID) per le quali sono disponibili test di screening basati sulla spettrometria di massa.

Il prossimo capitolo affronterà approfonditamente questo argomento.



KEYPOINTS

- Alcune delle indagini catalogate come di secondo livello sono, in realtà, a “cavallo” tra primo e secondo livello e, a seconda del sospetto diagnostico, età, segni e sintomi, possono essere indicate sia in prima battuta sia nelle più fini definizioni del secondo livello.
- La determinazione dei titoli anticorpali specifici verso antigeni vaccinali o frutto di esposizione naturale rappresenta un’indagine di estrema importanza. Le indicazioni per un primo livello sono tuttavia veramente limitate, nonostante l’esame non necessiti di particolari expertise e possa essere richiesto presso i laboratori della maggior parte degli ospedali.
- La diagnostica definita di “secondo livello” prevede la valutazione delle diverse sottopopolazioni linfocitarie, e l’esecuzione di test volti allo studio della funzionalità (non del numero) delle varie serie cellulari del sistema immune.
- I test funzionali sono in genere molto sofisticati e svolti da laboratori dedicati che, sulla base dei risultati, suggeriscono eventualmente la necessità di ricorrere a indagini molecolari e/o genetiche che appartengono al “terzo livello”.

Screening neonatale

C. Azzari, S. Ricci

Le immunodeficienze severe combinate (SCID, *severe combined immunodeficiency*) sono un gruppo eterogeneo di malattie tutte caratterizzate da deficit gravi a carico del compartimento dell'immunità cellulare e umorale. In particolare, il deficit della risposta immunitaria cellulare può essere dovuto ad un deficit di maturazione e/o di funzione delle cellule T, mentre il deficit di risposta umorale può essere dovuto a un'alterazione a carico dei linfociti B o riflettere un'inadeguata attività dei linfociti T helper. I bambini che nascono con una SCID appaiono normali alla nascita ma già nei primi mesi di vita, quando vengono perdute le immunoglobuline materne, iniziano a presentare difetti di crescita gravi, diarrea cronica e infezioni ricorrenti e spesso dovute a germi opportunisti. Questi sono i problemi che solitamente portano questi bambini all'attenzione medica. Le forme SCID, in particolare, sono caratterizzate dalla precocità di esordio e dalle infezioni clinicamente importanti; sono le forme più gravi tra le immunodeficienze e conducono a morte nel primo anno di vita se non sono subito riconosciute e trattate adeguatamente e tempestivamente. Esistono poi forme di immunodeficienza combinata, ovvero che interessano sia la linea cellulare che quella umorale, che sono meno gravi e sono chiamate CID (*Combined ImmunoDeficiency*). Le forme SCID, nel periodo precedente al primo trapianto di midollo osseo nel 1968 per immunodeficienze, erano sempre fatali. Oggi, oltre al trapianto di cellule staminali (HSCT, *Human Stem Cell Transplantation*) da sangue midollare o cordonale, esistono, per i casi di Adenosina Deaminasi deficienza (*ADA deficiency*), la terapia enzimatica sostitutiva o terapie geniche sperimentali con un alto profilo di sicurezza ed efficacia.

In epoca moderna sviluppare un sistema di screening neonatale (NBS, *NewBorn Screening*), che permetta di diagnosticare una immunodeficienza prima di contrarre infezioni spesso letali o causa di gravi morbidità, appare dunque essere un diritto per i bambini che nascono con SCID e per le loro famiglie.

Lo screening neonatale: quando e perché?

Lo screening neonatale nasce sempre con l'intento di ridurre la morbidità e la mortalità neonatale-infantile. Per raggiungere tale obiettivo esistono dei requisiti precisi ai quali una patologia deve rispondere. Per far sì che un programma di screening sia utile e venga quindi istituito bisogna che:

1. la patologia abbia un elevato tasso di morbidità e mortalità;
2. la patologia abbia un'alta incidenza nella popolazione;
3. la patologia sia caratterizzata da un periodo di asintomaticità;
4. esista un marcatore biochimico altamente sensibile e specifico;
5. tale metodica abbia un costo e una fattibilità sostenibile;

6. esista una terapia che, se instaurata precocemente, possa cambiare il decorso clinico della patologia stessa. Nonostante le immunodeficienze primitive (IDP) siano considerate patologie rare, l'incidenza di tali patologie in epoca pre-screening era stimata intorno a 1:100.000 bambini,¹ ma è molto probabile che molti bambini affetti da SCID siano morti prima di ricevere una diagnosi e che pertanto questa incidenza sia altamente sottostimata. Molti studi in letteratura² hanno dimostrato che il trattamento precoce del paziente con SCID possa modificarne in modo favorevole il decorso altrimenti fatale. In particolare, più precoce è l'età in cui viene eseguito il trattamento, qualunque esso sia, più favorevole sarà l'outcome. Se il trapianto viene effettuato nei primi 3 mesi e mezzo di vita, ovvero in una condizione in cui il bambino è molto probabilmente libero da infezioni, il tasso di sopravvivenza sarà intorno al 95%, contro il 60-70% dei casi in cui il trapianto viene eseguito più tardivamente.² Per esempio, per i bambini fratelli di pazienti con IDP che quindi hanno potuto beneficiare di una diagnosi neonatale, l'outcome è stato migliore rispetto ai casi nuovi-sporadici.³

Storia dello screening neonatale per le SCID

Scegliere la metodica più adeguata come screening neonatale per SCID non è semplice. Vari tentativi sono stati fatti dal 1970 in poi. Uno dei primi metodi proposti fu quello di dosare i livelli di interleuchina 7. Questa molecola è importante nelle tappe di maturazione dei linfociti T e risultava elevata in molte immunodeficienze.⁴ Il dosaggio di IL-7 su *spot* neonatale (DBS, *Dried Blood Spot*) purtroppo però non si dimostrò così affidabile, necessitando di ulteriori conferme con test più specifici e con costi troppo elevati. L'esecuzione di un emocromo per tutti i neonati è stata un'idea più volte presa in considerazione, ma tale analisi non si è mai dimostrata sufficientemente sensibile e specifica. In alcune immunodeficienze, dove si ha un alto numero di cellule B, come per esempio la sindrome di Omenn, oppure nei casi in cui ci siano linfociti T materni, la conta linfocitaria può essere normale o alta portando a molti falsi negativi. D'altra parte alzare la soglia di definizione della linfopenia porterebbe a troppi falsi positivi. Quindi la conta linfocitaria totale presenta una sovrapposizione di valori troppo ampia tra bambini malati e sani per essere considerata valida come metodica per lo screening neonatale. Inoltre, eseguire un prelievo venoso per ogni nuovo nato non costituirebbe una procedura routinaria. La praticità dello screening è uno dei prerequisiti fondamentali e per questo si ritiene che la metodica più adeguata sia comunque un'analisi che può essere condotta a partire dalla goccia di sangue sulla cartina di Guthrie. Quest'ultima prende il nome da Robert Guthrie, che ideò il primo test di screening per fenilchetonuria utilizzando un pezzetto di carta bibula assorbente che facilita al massimo la raccolta e la conservazione di sangue per molti anni. Nei Centri in cui si effettua lo screening per la fibrosi cistica, per esempio, includono come test di screening di secondo livello la ricerca delle mutazioni note del gene CFTR. Il problema per le SCID è che le mutazioni responsabili sono molte centinaia e che negli ultimi anni, soprattutto con l'avvento

di nuove sensibili metodiche di analisi genetica (NGS, *Next Generation Sequencing*) il numero di geni coinvolti è in continua crescita. Inoltre, ci sono molti pazienti immunodeficienti che non possiedono una diagnosi genetica. Infine, anche il costo rende il sequenziamento genico improponibile, a oggi, come test di screening neonatale.

Tabella 1. Condizioni identificate dall'analisi TREC

SCID tipiche <300 linfociti T autologhi/ μ L, test funzionale gravemente ridotto, spesso con <i>engraftment</i> T materno e difetti deleteri in geni SCID conosciuti	SCID-forme intermedie (<i>leaky</i>) 300–1.499 linfociti T autologhi/ μ L (o di più ma cellule T oligoclonali), ridotto test funzionale, solitamente senza <i>engraftment</i> T materno, con difetti incompleti in geni conosciuti per SCID	Linfopenia congenita idiopatica Linfociti T persistentemente bassi (300–1.499/ μ L), test funzionali e/o alterazione della linea cellulare B, senza difetti nei geni noti per SCID, eziologia e andamento clinico da determinare	Altre sindromi genetiche con noto difetto delle cellule T	Altre cause di linfopenia Con linfociti T circolanti bassi
IL2Ry (X-linked)	Sindrome di Omenn		Sindrome di DiGeorge	Interventi cardiocirurgici
ADA			CHARGE	Prematuri <30 settimane (linfopenia transitoria)
IL-7R			Trisomia 21	IUGR
JAK3			Sindrome Iper-IgE	Linfangectasia
RAG1/RAG2			<i>Cartilage hair hypoplasia</i>	Leucemia neonatale
DCLRE1C (Artemis)				
TCRD/TCRE/TCRZ				
CD45				

TREC assay

I TREC (*T-cell receptor excision circles*) sono piccoli frammenti di DNA in eccesso che si formano durante lo sviluppo delle cellule T naïve nel timo. In particolare, derivano dal processo di differenziazione del recettore delle cellule T (TCR); il processo prevede dei tagli e assemblaggi casuali tra sequenze geniche specifiche V, D e J.

Tale processo di ricombinazione spiega l'enorme e diversificato repertorio di cellule T pronte a riconoscere migliaia di differenti antigeni. Gli scarti di DNA che si ottengono da questo raffinato processo di "taglia e cuci" si aggregano a costituire delle strutture circolanti, appunto i TREC. Questi non si moltiplicano durante la divisione cellulare, cosicché un dosaggio quantitativo di questi elementi dà un'idea quantitativa sul numero delle cellule T che sono andate incontro a maturazione. Quando la ricombinazione non avviene normalmente o quando esiste un grave difetto numerico di cellule T allora i TREC risulteranno in numero molto ridotto o assenti. Nonostante le SCID presentino una vasta eterogeneità genetica, la maggior parte di queste presenta un ridotto numero di cellule T naïve e quindi un basso numero di TREC. Pertanto, negli USA (il primo ospedale è stato il *Children's Hospital* del Wisconsin) è stato messo a punto e validato un metodo di screening neonatale basato su una tecnica di amplificazione genica (*Real-Time PCR*) capace di effettuare un dosaggio quantitativo dei TREC su DBS. Tale metodica di screening, a oggi, è molto diffusa nel mondo, e progetti pilota sono stati iniziati in molti Paesi. In Italia, presso l'Ospedale Meyer di Firenze, viene eseguita dal 2014 la determinazione neonatale di TREC per tutti i nuovi nati toscani, e nel futuro prossimo anche per altri Centri extraregione. Il DNA necessario per la RT-PCR viene ottenuto dalla goccia di sangue che si trova sulla cartina di Guthrie. Ciò permette di abbattere notevolmente i costi e risulta essere un metodo molto pratico dato che si possono utilizzare gli stessi *spot* neonatali comunemente utilizzati per lo screening neonatale di altre patologie quali la fibrosi cistica e l'ipotiroidismo. I TREC sono molto abbondanti nel sangue dei bambini e progressivamente diminuiscono con l'aumentare dell'età, riflettendo una progressiva riduzione nel contributo timico all'uscita di cellule T in confronto all'espansione periferica di cellule T nel bambino più grande e negli adulti. Oltre alla diagnosi di SCID, si può osservare un ridotto numero di TREC anche in pazienti con forme intermedie di SCID, nei pazienti con engraftment T materno e nei pazienti con sindromi talvolta associate a immunodeficienza, quali la sindrome di DiGeorge (solo i casi con aplasia timica completa e profonda linfopenia), trisomia 21, sindrome di CHARGE (*cardiac defect, atresia choanae, retarded growth and development, genital abnormality and ear abnormality*), sindrome da rotture cromosomiche di Nijmegen oppure casi di malformazione gastrointestinale con linfangectasia o leucemia congenita (linfopenia per invasione midollare del clone leucemico).

TREC assay: screening buono ma non perfetto

Il metodo di determinazione molecolare dei TREC, tuttavia, presenta alcuni limiti: innanzitutto non può evidenziare i difetti isolati dei linfociti B, come la agammaglobulinemia congenita (XLA o malattia di Bruton), che possono manifestarsi già nel primo anno di vita con una sintomatologia di gravità e con conseguenze paragonabili a quelle delle SCID con difetto di T. Inoltre il suo costo non è trascurabile (circa 6-8 \$/test) e presenta



una specificità e sensibilità buone ma non del tutto soddisfacenti. Per quanto riguarda la specificità, è stato dimostrato che la ricerca dei TREC con RT-PCR può dare falsi positivi in bambini prematuri, in neonati in corso di sepsi o anche in pazienti con linfopenie transitorie non associate a immunodeficienza.⁵ In merito, poi, alla sensibilità, il metodo non è risultato in grado di diagnosticare alla nascita forme genetiche di CID nelle quali si hanno mutazioni in geni coinvolti nello sviluppo di cellule T ma in tappe successive alla ricombinazione del TCR. Le cellule T in questo caso vengono prodotte in numero normale ma possono presentare dei difetti di migrazione, di proliferazione, di sopravvivenza o di formazione di cellule della memoria. In questi casi la clinica sarà simile a quella delle SCID: infezioni opportunistiche, autoimmunità, difetto di crescita, ma i TREC saranno nella norma.⁶ Inoltre, per esempio, sono riportati in letteratura alcuni difetti di adenosina deaminasi (*ADA-SCID late onset*)⁷ con screening neonatale basato sulla determinazione dei TREC falsamente negativi.

KREC assay

Non soltanto per le SCID, ma per tutte le immunodeficienze primitive si ottiene un beneficio dalla diagnosi precoce. Anche nelle cellule B, durante il processo di maturazione, si verifica una ricombinazione genica che produce piccole parti di DNA avanzato che può essere quantificato mediante amplificazione genica con RT-PCR. Anche in questo caso non si ha replicazione di tale materiale genetico durante la mitosi. Questi frammenti vengono chiamati KREC (*kappa-deleting-recombination-excision circles*) e un numero ridotto di KREC riflette un deficit di cellule B. È stato recentemente dimostrato che in alcune forme di SCID con fenotipo più lieve, può essere alterato anche uno solo dei due test TREC/KREC. L'utilizzo di entrambi i metodi contemporaneamente

consente certamente di migliorare la sensibilità di diagnosi. Nel tentativo di individuare alcune patologie come casi di atassia-telangiectasia e malattia di Bruton (XLA), negli ultimi anni è stata messa a punto una tecnica di biologia molecolare (*PCR multiplex*) in grado di quantificare durante la stessa analisi TREC e KREC.⁸ Tuttavia, parallelamente all'aumento della sensibilità, c'è da considerare anche l'aumento del costo della metodica, che risulta essere sostenibile solo per le aree più ricche della popolazione mondiale. Inoltre l'aumento della sensibilità comporta una riduzione di specificità a cui consegue un eccessivo numero di richiami per screening falsamente positivi.

Lo screening con tandem Mass si allarga alle immunodeficienze

Data l'esistenza di limiti della metodica TREC/KREC, in Italia dal 2011 è stato sviluppato e validato presso l'Ospedale Anna Meyer di Firenze un nuovo metodo basato sulla *tandem mass (MS, Mass Spectrometry)* in grado di identificare due forme di SCID, il difetto di adenosina deaminasi (ADA-SCID) e il difetto di purina-nucleoside-fosforilasi (PNP-SCID) caratterizzate da profonde alterazioni metaboliche. Le alterazioni sono già presenti alla nascita e sono caratterizzate, nel caso di ADA-SCID, dall'accumulo di due metaboliti, l'adenosina e la desossiadenosina e, nel caso di PNP-SCID, di guanosina, inosina e dei loro deossi-derivati. I metaboliti specifici sono facilmente individuabili negli *spot* di sangue prelevati alla nascita, utilizzando la stessa procedura di MS con cui oggi, nella maggior parte dei Paesi del mondo, si effettua lo screening neonatale per gli errori congeniti del metabolismo.⁹ I livelli di metaboliti risultano molto stabili e la loro quantificazione risulta possibile su DBS anche molti anni più tardi. Da gennaio 2011 per i nuovi nati della Toscana il pannello di patologie sottoposte a screening neonatale in MS è stato allargato a queste due forme di immunodeficienze "metaboliche". L'ADA-SCID rappresenta una delle forme più frequenti di SCID (10-25%). A seconda dell'età di esordio si possono avere forme neonatali (*early onset*) che portano rapidamente a morte per infezioni gravi, e forme più tardive (*delayed and late onset*) che si manifestano con severe infezioni ricorrenti, autoimmunità, danno neurologico. Proprio per la loro caratteristica di progressività e, quindi, per il fatto che il danno timico può non essere completo alla nascita, le forme che non hanno esordio neonatale sfuggono al test basato su dosaggio di TREC mentre vengono individuate mediante il test in MS.⁹⁻¹⁰ La differenza tra i valori che si trovano nei pazienti con ADA-SCID e nei soggetti sani è estremamente ampia, tanto che non esiste *overlapping* nei range tra sano e malato, con conseguente elevata specificità e sensibilità. La conseguenza di questo fenomeno è un'altissima specificità e sensibilità del test. Lo screening per ADA e PNP-SCID mediante spettrometria di massa potrebbe essere facilmente incluso in un programma di screening sulla popolazione a causa del suo basso costo (inferiore a 0,05 €/test) e perchè non richiede né strumentazione extra né tempo extra degli operatori, che già lavorano nei programmi di screening.

Essendo, estremamente poco costoso e più sensibile dei TREC per la diagnosi di ADA-SCID e PNP-SCID, il metodo MS potrebbe essere utilizzato in aggiunta all'uso dei TREC. Inoltre, per il bassissimo costo di applicazione, il metodo potrebbe essere introdotto in tutte quelle realtà che non dispongono di fondi sufficienti ad uno screening su base molecolare come TREC/KREC assay.

Screening neonatale e SCID: implicazioni cliniche e altre considerazioni finali

Concludendo, non esiste nel mondo un *consensus* su quale sia la metodica di screening più adeguata, ma non ci sono dubbi sul fatto che lo screening neonatale per SCID ci permetta di cambiare la storia naturale delle immunodeficienze. Presso l'Ospedale Anna Meyer di Firenze già da due anni viene eseguito lo screening neonatale con dosaggio di TREC/KREC e metaboliti ADA e PNP con *tandem mass* per tutti i nuovi nati della provincia fiorentina e come progetto pilota per altri Centri extraregione. Fare diagnosi precoce di linfopenia severa in epoca pre-sintomatica ci permette di abbattere i tassi di mortalità e di morbilità per questi pazienti. Il piccolo paziente immunodeficiente potrà infatti iniziare tempestivamente uno stretto follow-up clinico, una profilassi antimicrobica, se necessario una terapia sostitutiva con immunoglobuline per via endovenosa o sottocutanea. Se dovesse aver bisogno di una trasfusione saprà di poter ricevere solo sangue irradiato, CMV-negativo. I vaccini vivi attenuati (MPR-V, BCG, tifo, e *Rotavirus*) saranno per lui proibiti. I pazienti la cui linfopenia non migliora dovranno essere sottoposti a trapianto di cellule staminali che, se eseguito in età precoce, avrà un outcome nettamente più favorevole.

Inoltre verranno diagnosticate molte condizioni "nuove" di linfopenia idiopatica per le quali non si riuscirà a trovare una diagnosi all'interno del già cospicuo numero di geni responsabili per IDP. Dunque, da una parte, grazie alle metodiche di *Next Generation Sequencing* si apriranno interessanti prospettive per nuove diagnosi genetiche; dall'altra, grazie alla diagnosi precoce pre-sintomatica seguiremo in modo diverso malattie già note, per esempio le forme a esordio tardivo come la deficienza di *ADA late-onset*. Questo ci permetterà probabilmente di migliorare la comprensione, a oggi incompleta, dei meccanismi patogenetici alla base della eterogeneità fenotipica di molte immunodeficienze congenite. Per questo motivo stiamo creando un registro nazionale di tutti quei casi che presentano uno screening neonatale per SCID positivo indipendentemente dalla clinica e/o dalla diagnosi genetica. Grazie a questo registro potremo seguire in un'ottica nuova quei pazienti che forse prima avremmo perduto perché inizialmente asintomatici o senza definizione diagnostica. Inoltre, una corretta diagnosi ci permette di non sottostimare l'incidenza di SCID, che secondo Kwan e collaboratori è stata stimata essere circa il doppio rispetto alle vecchie stime (1:53.000), al tempo stesso ciò ci consente di condurre un doveroso *counselling* prenatale per tutte quelle famiglie che magari hanno già vissuto una tragica perdita.

Infine, per tutti questi motivi, ci auspichiamo che presto lo screening neonatale in Italia venga esteso alle immunodeficienze attraverso nuove norme legislative e in modo uniforme in tutte le regioni, allineandosi così alle più moderne politiche di sanità pubblica e promozione alla salute di altri stati nel mondo.



KEYPOINTS

- I bambini che nascono con una SCID appaiono normali alla nascita ma, già nei primi mesi di vita, iniziano a presentare difetti di crescita gravi, diarrea cronica e infezioni ricorrenti.
- Lo screening neonatale consente di identificare le SCID prima della comparsa dei sintomi.
- TREC assay I TREC (*T-cell receptor excision circles*) sono piccoli frammenti di DNA in eccesso che si formano durante lo sviluppo delle cellule T naïve nel timo. In particolare, derivano dal processo di differenziazione del recettore delle cellule T (TCR); il processo prevede dei tagli e assemblaggi casuali tra sequenze geniche specifiche V, D e J.
- Uno dei metodi di screening neonatale è basato su una tecnica di amplificazione genica (*Real-Time PCR*) capace di effettuare un dosaggio quantitativo dei TREC su DBS. Tale metodica di screening, a oggi, è molto diffusa nel mondo, e progetti pilota sono stati iniziati in molti Paesi. Quando la ricombinazione non avviene normalmente o quando esiste un grave difetto numerico di cellule T allora i TREC risulteranno in numero molto ridotto o assenti.
- KREC assay Anche nelle cellule B, durante il processo di maturazione, si verifica una ricombinazione genica che produce piccole parti di DNA avanzato che può essere quantificato mediante amplificazione genica con RT-PCR. Anche in questo caso non si ha replicazione di tale materiale genetico durante la mitosi. Questi frammenti vengono chiamati KREC (*kappa-deleting-recombination-excision circles*) e un numero ridotto di KREC riflette un deficit di cellule B.
- Lo screening con tandem Mass Data l'esistenza di limiti della metodica TREC/KREC, in Italia dal 2011 è stato sviluppato e validato presso l'Ospedale Anna Meyer di Firenze un nuovo metodo basato sulla tandem mass (MS, *mass spectrometry*) in grado di identificare due forme di SCID, il difetto di adenosina deaminasi (ADA-SCID) e il difetto di purina-nucleoside-fosforilasi (PNP-SCID) caratterizzati da profonde alterazioni metaboliche.
- In futuro, grazie alle metodiche di *Next Generation Sequencing* si apriranno interessanti prospettive per la diagnosi precoce di altre malattie.

Bibliografia

1. Buckley RH et al. Human severe combined immunodeficiency: genetic, phenotypic, and functional diversity in one hundred eight infants. *J Pediatr* 1997; 130(3): 378-87.
2. Pai SY et al. Transplantation out- comes for severe combined immunodeficiency, 2000-2009. *N Engl J Med* 2014; 371(5): 434-46.
3. Brown L et al. Neonatal diagnosis of severe combined immunodeficiency leads to significantly improved survival outcome: the case for newborn screening. *Blood* 2011; 117(11): 3243-6.
4. Bolotin E et al. Serum levels of IL-7 in bone marrow transplant recipients: relationship to clinical characteristics and lymphocyte count. *Bone Marrow Transplant* 1999; 23(8): 783-8.
5. Mallott J et al. Newborn screening for SCID identifies patients with ataxia telangiectasia. *J Clin Immunol* 2013; 33(3): 540-9.
6. Grazioli S et al. Limitation of TREC-based newborn screening for ZAP70 severe combined immunodeficiency. *Clin Immunol* 2014; 153(1): 209-10.
7. la Marca G et al. Tandem mass spectrometry, but not T-cell receptor excision circle analysis, identifies newborns with late-onset adenosine deaminase deficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2013; 131(6): 1604-10.
8. Borte S et al. Neonatal screening for severe primary immunodeficiency diseases using high-throughput triplex real-time PCR. *Blood* 2012; 119(11): 2552-5.
9. Azzari C, la Marca G, Resti M. Neonatal screening for severe combined immunodeficiency caused by an adenosine deaminase defect: a reliable and inexpensive method using tandem mass spectrometry *J Allergy Clin Immunol* 2011; 127(6): 1394-9.
10. la Marca G et al. The inclusion of ADA-SCID in expanded newborn screening by tandem mass spectrometry. *J Pharm Biomed Anal* 2014; 88: 201-6.



Le vaccinazioni nelle immunodeficienze primitive

A. Plebani, V. Lougaris, M. Bergamini

A causa della aumentata suscettibilità alle infezioni, tutte le misure di prevenzione sono caldamente raccomandate nei pazienti con IDP. Tra tutte le misure di prevenzione possibili, le vaccinazioni sono le più importanti misure primarie. Ma nel paziente con immunodeficienza primitiva le vaccinazioni sono efficaci e sicure?

Per quanto riguarda l'efficacia, proprio per via del difetto immunologico di base nei pazienti con immunodeficienza, la risposta anticorpale potrebbe essere assente o scarsa. In questo caso può avere senso eseguire comunque le vaccinazioni elencate nel calendario vaccinale attualmente in uso in Italia? E se sì, quali? Pur accettando che possano non essere efficaci o esserlo parzialmente, possiamo considerarle sicure, nel senso che gli effetti collaterali non sono differenti da quelli osservati nei coetanei sani?

Le risposte a questi quesiti non possono prescindere dal tipo di immunodeficienza e di vaccino considerato. Va altresì detto che, in alcuni casi, la risposta anticorpale contro le vaccinazioni riveste anche valore diagnostico.

In questo capitolo abbiamo cercato di dare un'impostazione pratica a questo argomento partendo dalla presentazione di casi clinici reali con specifiche forme di immunodeficienze che possono giungere all'osservazione di noi pediatri durante l'attività sul territorio o in ospedale, commentando di volta in volta gli aspetti clinici e immunologici e cercando di spiegare in modo ragionato e scientificamente valido, basandoci anche sulle raccomandazioni formulate da un pannello di esperti, le scelte vaccinali proposte.

CASO 1

Paziente di sesso maschile. All'età di tre mesi, dopo due episodi di otite, il curante ha prescritto alcuni accertamenti tra cui:

emocromo: risultato nella norma;

immunoglobuline sieriche:

- IgG: 108 mg/dl (v.n. 231-497);

- IgA: 6 mg/dl (v.n. 8-74);

- IgM: 10 mg/dl (v.n. 26-210).

Questi dati evidenziano una condizione di **ipogammaglobulinemia**. La diagnosi differenziale si pone tra:

agammaglobulinemia;

ipogammaglobulinemia comune variabile;

ipogammaglobulinemia transitoria dell'infanzia.

Per la diagnosi differenziale vengono valutate le sottopopolazioni linfocitarie con i seguenti risultati:

CD3: 68% (75 ± 7);

CD4: 39% (45 ± 10);

CD8: 25% (25 ± 9);

CD19: 9% (10 ± 5).

La presenza dei linfociti B (CD19) consente di escludere una agammaglobulinemia.

Per porre quindi diagnosi differenziale tra ipogammaglobulinemia comune variabile e ipogammaglobulinemia transitoria dell'infanzia è utile valutare altri due parametri, quali l'andamento delle immunoglobuline nel tempo e la valutazione della risposta anticorpale contro antigeni vaccinali.

Nel nostro caso l'andamento delle immunoglobuline nel tempo ha mostrato un aumento progressivo dei valori:

	3 mesi	6 mesi	12 mesi
IgG (mg/dl)	108	165	230
IgA (mg/dl)	6	15	20
IgM (mg/dl)	10	30	45

Con questo andamento non vi è nessuna controindicazione alla somministrazione dei vaccini costituiti da antigeni proteici purificati/inattivati. Anzi, la valutazione della risposta anticorpale contro questi antigeni (per esempio il Tetano e l'HBsAg), ha valore diagnostico, nel senso che la presenza di una normale risposta anticorpale conferma la transitorietà del difetto. Quindi non vi è nessuna controindicazione all'inizio del normale calendario vaccinale alle età previste. Dopo la terza dose di vaccino il piccolo ha presentato una normale risposta anticorpale contro Tetano e HBsAg e all'età di 13 mesi ha quindi eseguito la vaccinazione contro Morbillo, Parotite e Rosolia senza problemi.

Caso 1 scenario 1

La diagnosi in questo caso è di ipogammaglobulinemia transitoria dell'infanzia. Questi bambini possono essere vaccinati secondo il normale calendario vaccinale.

Caso 1 scenario 2

Nel caso la valutazione delle sottopopolazioni linfocitarie nel nostro paziente avesse dimostrato l'**assenza dei linfociti B** avremmo posto diagnosi di **agammaglobulinemia**. **In questa condizione, stante la incapacità a produrre anticorpi, le vaccinazioni non sono efficaci.**

In ogni caso, se la vaccinazione con antigeni proteici purificati/inattivati fosse stata **eseguita prima della diagnosi** gli effetti collaterali del vaccino sarebbero risultati sovrapponibili a quelli di un soggetto immunocompetente. Comunque, una volta posta

diagnosi e iniziato il trattamento con immunoglobuline non vi è una motivata ragione per continuare il calendario vaccinale.

In questi pazienti può trovare indicazione la vaccinazione anti-influenzale con vaccino inattivato per via dell'integrità del compartimento dei linfociti T (linfociti coinvolti nella difesa contro i virus), anche se la sua efficacia non è provata.

Per quanto riguarda la vaccinazione contro Morbillo, Parotite e Rosolia (vaccini costituiti da virus vivi attenuati), nei bambini con diagnosi di agammaglobulinemia posta dopo il primo anno, quando avevano già ricevuto questa vaccinazione, non sono stati riportati effetti collaterali diversi rispetto ai soggetti immunocompetenti. Inoltre, una valutazione condotta su 50 pazienti affetti da agammaglobulinemia che avevano ricevuto il vaccino BCG (costituito da batteri vivi attenuati) ha dimostrato assenza di effetti collaterali.¹ Tutto questo è spiegabile sulla base della integrità del compartimento dei linfociti T in questi pazienti.

In ogni caso, il comitato di esperti, nel documento sulla vaccinazione nei pazienti con immunodeficienze primitive,¹ sottolinea che rimane incerto il rischio reale della vaccinazione con patogeni vivi attenuati in questi pazienti e manca l'evidenza di una loro efficacia protettiva. La vaccinazione con virus vivi attenuati pertanto non trova indicazione, in particolare quella con vaccino polio orale (OPV, *Oral Polio Virus*), peraltro non più previsto nel nostro calendario vaccinale, per via della maggiore suscettibilità di questi pazienti agli Enterovirus. In alcuni casi, in pazienti non ancora diagnosticati, sono state proprio le complicanze insorte dopo vaccinazione (VAPP = *Vaccine Associated Polio Paralysis*) con OPV a portare alla diagnosi di agammaglobulinemia.

Caso 1 scenario 3

Nel caso la valutazione delle sottopopolazioni linfocitarie avesse evidenziato valori normali di linfociti B, **ma l'andamento nel tempo delle immunoglobuline non avesse dimostrato alcun aumento rispetto al valore basale e la risposta anticorpale alla somministrazione di vaccini costituiti da antigeni proteici purificati/inattivati fosse risultata deficitaria, avremmo posto diagnosi di ipogammaglobulinemia comune variabile (CVID)**. In questo caso, la vaccinazione con antigeni proteici purificati/inattivati è utile a scopo diagnostico e non rappresenta alcun rischio aggiuntivo rispetto ai soggetti immunocompetenti. Tuttavia, una volta posta la diagnosi e iniziato il trattamento con immunoglobuline, non vi è motivata indicazione a continuare il calendario vaccinale.² Per via di una "residua" attività del compartimento dei linfociti T nella CVID, può trovare indicazione la vaccinazione anti-influenzale con vaccino inattivato anche se non vi è chiara evidenza di efficacia.² In molti di questi pazienti la diagnosi di CVID è stata posta ben oltre il primo anno di vita, quando avevano già ricevuto anche la vaccinazione contro Morbillo, Parotite e Rosolia senza che avessero presentato effetti collaterali diversi da quelli osservati nei soggetti immunocompetenti. In ogni caso, il comitato di esperti,¹ considerando che la CVID può presentare in modo variabile una compromissione del compartimento dei linfociti T, sottolinea che rimane incerto il rischio reale della

somministrazione di vaccini costituiti da virus vivi attenuati in questi pazienti e manca l'evidenza di una loro efficacia protettiva. Quindi, anche se non vi sono dati di infezione a seguito della somministrazione di questi vaccini, è ragionevole soprassedere alla loro somministrazione.²

CASO 2

Paziente di sesso femminile. Storia familiare positiva per atopia e celiachia. Riferiti frequenti episodi di bronchite asmatiforme. All'età di 6 anni ricovero per broncopolmonite. Nel corso del ricovero vengono eseguiti accertamenti di laboratorio che evidenziano un'anemia microcitica (Hb: 9,3 mg/dl con MCV: 68 μ^3) e bassi valori di IgA sieriche (IgG: 1.256 mg/dl, v.n. 633-1.016; IgA: <2 mg/dl, v.n. 41-315; IgM: 144 mg/dl, v.n. 56-261). Si pone diagnosi di deficit selettivo di IgA. Prick test positivi. Sulla base dell'anemia microcitica, di una HLA compatibile (DQ2) per celiachia, esegue una biopsia duodenale che pone diagnosi di celiachia.

All'età di 8 anni, in seguito alla comparsa di tumefazione del collo, esegue un'ecografia compatibile con tiroidite autoimmune (FT3: 3,4 pg/ml, v.n. 2,3-4,2; FT4: 6,5 pg/ml, v.n. 7-18; TSH: 79,23 mU/l, v.n. 0,35-5,5); Ab antiperossidasi: 13.258 (v.n. <100); Ab antitireoglobulina: 248 (v.n. <75); Ab antirecettore TSH: 3,98 (v.n. <0,4).

Si tratta di un **difetto selettivo di IgA**, forma di immunodeficienza più frequente, che può decorrere in modo del tutto asintomatico o presentarsi con infezioni (principalmente del tratto respiratorio o gastroenterico). Altre patologie associate sono le allergie, la celiachia e le malattie autoimmuni. La nostra paziente presentava tutte queste patologie.

La diagnosi di deficit selettivo di IgA è stata posta in un'età in cui il calendario vaccinale era già stato eseguito. In ogni caso, se fosse anche stata diagnosticata prima dell'inizio/completamento delle vaccinazioni programmate, non vi sarebbe stata alcuna controindicazione alla loro somministrazione, comprese quelle con virus vivi attenuati.¹ I soggetti con deficit selettivo di IgA possono eseguire il normale calendario vaccinale.³

CASO 3

Paziente di sesso maschile. Cugino materno deceduto a 7 mesi per polmonite. All'età di 8 mesi ricovero in terapia intensiva per distress respiratorio; intubazione e ventilazione meccanica. RX torace: polmonite bilaterale in un contesto di interstizio-patia. Nel BAL viene isolato un patogeno opportunisto (*Stenotrophomonas maltophilia*).

La gravità del quadro polmonare (attenzione ai neonati/lattanti che finiscono in rianimazione per un quadro polmonare grave), l'isolamento del germe opportunisto, l'esordio precoce della sintomatologia infettiva e una storia familiare compatibile con un difetto immunologico hanno fatto pensare a una immunodeficienza grave associata a linfopenia.

L'emocromo evidenziava una conta dei globuli bianchi nella norma per l'età, con valori di linfociti come conta assoluta al limite inferiore (GB: 14.000/ μ l, v.n. 6.000-17.000/ μ l; N: 75%; L: 18% (2.520/ μ l; v.n. >2.900/ μ l).

Il dosaggio delle immunoglobuline sieriche evidenziava una profonda ipogammaglobulinemia (IgG: 65 mg/dl, v.n. 351-919; IgA: <6 mg/dl, v.n. 10-85; IgM: 10 mg/dl, v.n. 38-204). A dispetto della mancanza di una marcata linfopenia (un dato che da solo può fare diagnosi di immunodeficienza combinata), la profonda agammaglobulinemia e il quadro clinico soprariportato deponevano per una **immunodeficienza combinata grave**.

La valutazione delle sottopopolazioni linfocitarie ha dato il seguente risultato:

CD3: 1,7% (v.n. 75 ± 7);

CD4: 0,6% (v.n. 45 ± 10);

CD8: 0,4% (v.n. 25 ± 9);

CD19: 96% (v.n. 10 ± 5).

Si evidenzia una totale assenza dei linfociti T (CD3+), mentre tutti i linfociti circolanti sono linfociti B (CD19+). Questo spiega l'assenza di linfopenia riscontrata all'emocromo. **Si tratta pertanto di una immunodeficienza combinata grave T-B+**. In assenza dei linfociti T, i linfociti B pur presenti sono non funzionali. La linfopenia, invece, si associa alle forme di immunodeficienza combinata grave T-B-.

In tutte le forme di immunodeficienza combinate le vaccinazioni, in particolare quelle con virus vivi e attenuati sono controindicate.^{1,3} Queste forme di immunodeficienza solitamente esordiscono entro i primi mesi di vita, quindi raramente questi soggetti hanno ricevuto i vaccini costituiti da virus vivi attenuati, mentre possono avere ricevuto i vaccini costituiti da antigeni purificati/inattivati che in questo caso risultano ovviamente inefficaci. Sono a rischio quei bambini affetti da immunodeficienze combinate che nascono nei Paesi nei quali viene ancora utilizzato il vaccino antipolio OPV, o nei Paesi nei quali viene praticata la vaccinazione con BCG (batteri vivi attenuati), o in quelli in cui la vaccinazione contro il *Rotavirus*⁴ è stata inserita nei programmi nazionali di vaccinazione, perché queste vaccinazioni vengono somministrate precocemente, quindi potenzialmente prima che la diagnosi di immunodeficienza combinata sia stata fatta. Nei pazienti affetti da SCID che hanno ricevuto la vaccinazione anti-*Rotavirus* si è osservata una diarrea prolungata e uno *shedding* virale durato diversi mesi.⁵



CASO 4

Paziente di sesso maschile. All'età di 4 giorni convulsioni in apiressia. Si riscontra una grave ipocalcemia (2,40 mEq/ml) e un ipoparatiroidismo (PTH: <1). Si rilevano alcune dismorfie facciali che fanno pensare a una **sindrome di DiGeorge**. La FISH22 conferma la diagnosi.

Il difetto immunologico nella sindrome di DiGeorge

Questa malattia si caratterizza, oltre che per dismorfie facciali, cardiopatia e convulsioni neonatali ipocalcemiche, anche per una ipoplasia timica, che però non è costante, a cui può associarsi un difetto della linea dei linfociti T presente nel 20-25% dei casi. Il difetto dei linfociti T può essere molto marcato, tale da configurare una immunodeficienza combinata (DiGeorge completo), o parziale (DiGeorge parziale). Va tenuto inoltre presente che in questa malattia il numero dei linfociti T, qualora inizialmente basso, può aumentare con l'età.

Le vaccinazioni con antigeni purificati/inattivati, inclusi gli antigeni polisaccaridici coniugati, non trovano alcuna controindicazione, in particolare è raccomandato anche il vaccino inattivato contro l'influenza.

Come comportarsi per quanto riguarda le vaccinazioni con virus vivi attenuati (Morbillo, Parotite e Rosolia)?

Fino a non molto tempo fa il Red Book riportava *"...all live viral vaccines are to be avoided, although inadvertent immunization with measles, mumps, and rubella, has not produced clinical infections"*.¹

In seguito, diversi studi⁶⁻⁸ hanno dimostrato l'efficacia e la sicurezza del vaccino contro Morbillo, Parotite e Rosolia nei pazienti con **sindrome di DiGeorge parziale** che presentavano valori pressoché normali, come conta assoluta, di linfociti CD4+. Sulla base di queste osservazioni, un pannello di esperti ha recentemente stilato un documento sulle vaccinazioni nei soggetti con immunodeficienza, nel quale si afferma, in merito alla sindrome di DiGeorge (ma anche ad altre immunodeficienze con difetti parziali del compartimento T come l'atassia teleangiectasia e la Wiskott Aldrich), che *"...weight of clinical evidence does not support strict avoidance of all viral vaccines. Documentation of adequate T-cell numbers (>500 CD4+T cells/ μ l) is required"*.¹

Nel nostro caso, la valutazione delle sottopopolazioni linfocitarie alla diagnosi ha dato i seguenti valori:

CD3: 1850/ μ l (55%, v.n. 75 \pm 7);

CD4: 1170/ μ l (35%, v.n. 45 \pm 10);

CD8: 672/ μ l (20%, v.n. 25 \pm 9);

CD19: 504/ μ l (15%, v.n. 10 \pm 5).

Le vaccinazioni con antigeni proteici purificati/inattivati sono state eseguite secondo il normale calendario vaccinale e hanno indotto una normale risposta anticorpale. Indicati sono anche i vaccini costituiti da antigeni polisaccaridici coniugati e il vaccino

anti-influenzale inattivato. All'età di 14 mesi sono state rivalutate le sottopopolazioni linfocitarie che sono risultate, come in precedenza, entro i valori normali per età. Il bambino è stato quindi vaccinato contro Morbillo, Parotite e Rosolia senza problemi. In ogni caso, va tenuto in considerazione che il grado di efficacia protettiva delle vaccinazioni dipende dal livello di immunocompetenza presentato dal paziente al momento della sua somministrazione.

CASO 5

Paziente di sesso femminile. All'età di 9 mesi ricovero per un episodio di bronco-polmonite. Si rileva un ritardato accrescimento staturò-ponderale (test del sudore e accertamenti per celiachia negativi) e gli esami eseguiti evidenziano un deficit selettivo di IgA. Le IgG sono 445 mg/dl (v.n. 351-919), le IgA: <5 mg/dl, (v.n. 10-85), le IgM: 144 mg/dl (v.n. 38-207) ed è presente una linfopenia (921/ μ l). Nell'anamnesi familiare risulta che questa bambina ha un fratellino maggiore di 3 anni affetto da **Atassia Teleangiectasia (AT)**. Sulla base di questo riscontro si dosa l'alfafetoproteina, che risulta elevata. Viene posto quindi il sospetto di AT anche in questa bambina, diagnosi che viene confermata dall'analisi genetica e dalla presenza di rotture cromosomiche al test di radiosensibilità. Per via della linfopenia, si eseguono le sottopopolazioni linfocitarie che evidenziano un importante difetto sia come percentuale che come valore assoluto:

CD3: 304/ μ l (33%, v.n. 75% \pm 7);

CD4: 184/ μ l (20% v.n. 45% \pm 10);

CD8: 65/ μ l (7%, v.n. 25% \pm 9);

CD19: 322/ μ l (35%, v.n. 10% \pm 5).

Il difetto immunologico nella AT

La AT è una malattia neurologica, a trasmissione autosomica recessiva, i cui sintomi neurologici (atassia) compaiono solitamente verso i due anni. In diversi pazienti vi possono essere alterazioni dell'immunità cellulare che consistono in una linfopenia di grado variabile con riduzione dei linfociti T, in particolare delle cellule CD4+, che però di solito non si associa ad aumentata incidenza di infezioni virali e di patogeni opportunisti. Vi possono essere anche alterazioni dell'immunità umorale, delle quali il deficit selettivo di IgA rappresenta il difetto più frequente, spesso associato a difetto di IgG2 e/o IgG4.

La diagnosi di AT è stata posta all'età di 9 mesi quando la bambina aveva già iniziato le vaccinazioni con antigeni purificati/inattivati, vaccinazioni che ha continuato fino a completamento del ciclo vaccinale, dal momento che questi vaccini non sono controindicati. Indicati sono anche i vaccini costituiti da antigeni polisaccaridici coniugati e il vaccino anti-influenzale inattivato. Il grado di efficacia protettiva della vaccinazione dipende dal livello di immunocompetenza presentato dal paziente al momento della sua somministrazione.

Per quanto riguarda la vaccinazione con virus vivi attenuati (Morbillo, Parotite e Rosolia), una rivalutazione delle sottopopolazioni linfocitarie all'età di 14 mesi ha confermato la persistenza del difetto precedentemente osservato e, quindi, in accordo con quanto suggerito dal comitato di esperti,¹ questi vaccini non sono stati somministrati.

CASO 6

Paziente di sesso maschile. Uno zio materno deceduto a un anno per emorragia cerebrale. Alla nascita il piccolo ha presentato diarrea mucoematosa; dai 2 mesi di vita comparsa di eczema. Durante un ricovero all'età di 6 mesi per un episodio di otite, all'emocromo si evidenzia una piastrinopenia (PTL: 22.000/ μ l), con un volume globulare piastrinico ridotto (MPV 3 fl (v.n. 6,5-9,5).

La storia clinica (emorragia da piastrinopenia, eczema, infezioni) e il valore piastrinico basso depongono per la **sindrome di Wiskott Aldrich (WAS)**, diagnosi confermata dall'analisi molecolare.

Il difetto immunologico nella sindrome di Wiskott Aldrich

Si tratta di una immunodeficienza primitiva a trasmissione X recessiva che comporta alterazioni del sistema immunitario che consistono generalmente in bassi livelli di IgM e in una linfopenia progressiva. Le IgE sono solitamente aumentate. Le sottopopolazioni T linfocitarie normali all'inizio tendono a diminuire con il tempo.

Nel nostro paziente si riscontrano bassi livelli di IgM [IgG: 450 mg/dl (v.n. 222-846), IgA: 65 mg/dl (v.n. 6-60), IgM: 12 mg/dl (v.n. 28-39) ed elevati livelli di (IgE: 180 UI/ml (v.n <2)].

La valutazione delle sottopopolazioni linfocitarie ha dato valori pressoché nella norma:

CD3: 2079/ μ l (57,3%, v.n. 75% \pm 7);

CD4: 1197/ μ l (33,1%, v.n. 45% \pm 10);

CD8: 947/ μ l (26,1%, v.n. 25% \pm 9);

CD19: 428/ μ l (11,8%, v.n. 10% \pm 5).

Il piccolo ha già eseguito senza problemi due dosi di vaccini costituiti da antigeni proteici purificati/inattivati secondo il calendario vaccinale; ha poi continuato fino a completamento del ciclo vaccinale, dal momento che questi vaccini non sono controindicati. Nella WAS trovano indicazione anche i vaccini costituiti da antigeni polisaccaridici coniugati e il vaccino antiinfluenzale inattivato. All'età di 15 mesi la rivalutazione delle sottopopolazioni linfocitarie ha confermato la persistenza di valori normali per l'età e, quindi, in accordo con quanto suggerito dal comitato di esperti,¹ ha eseguito anche la vaccinazione contro Morbillo, Parotite e Rosolia senza problemi.

CASO 7

Paziente di sesso maschile. All'età di 4 anni episodio di febbre persistente da 15 giorni con indici di flogosi elevati. Esami colturali e sierologie tutte negative. Mantoux negativa. Si escludono cause tumorali e malattie autoimmuni. Non presenta neutropenia né linfopenia. Gli accertamenti immunologici evidenziano normali livelli di immunoglobuline sieriche, normale distribuzione delle sottopopolazioni linfocitarie e normale funzionalità dei linfociti valutata mediante risposta proliferativa in vitro ai mitogeni. Un'ecografia addominale eseguita all'ingresso evidenzia la presenza di una lesione rotondeggiante ipoecogena con parenchima disomogeneo in sede paravertebrale destra. Si sospetta un ascesso. Rimanendo nell'ambito di un possibile difetto immunologico, la presenza di un ascesso, in assenza di un difetto dell'immunità umorale e cellulare (nello specifico dei linfociti T), ci deve orientare verso un difetto dei granulociti. Viene escluso un difetto numerico dal momento che all'emocromo non risulta una neutropenia. Si pensa quindi a un difetto funzionale dei neutrofili. Viene pertanto eseguito un NBT test che consente di formulare la diagnosi di **malattia granulomatosa cronica (CGD)**. L'analisi molecolare ha consentito in seguito di formulare la diagnosi di forma X recessiva di CGD.

La diagnosi è stata posta all'età di 4 anni, quando il bambino aveva già eseguito il ciclo vaccinale senza riportare nessun effetto collaterale. È la storia di diversi pazienti con CGD che vengono diagnosticati dopo il primo anno di vita. Per quanto riguarda questa malattia, non vi è alcuna controindicazione a eseguire il normale calendario vaccinale.



Difetti del complemento

Per quanto riguarda i difetti del complemento, sia quelli coinvolti nella fase precoce (deficit di C1, C2 e C4) che tardiva (deficit da C5 a C9) non vi è controindicazione alcuna ad eseguire il normale calendario vaccinale. In questi pazienti, anzi, è fortemente raccomandata la vaccinazione contro patogeni capsulati (*H. influenzae*, meningococco, pneumococco).

Contatti

I familiari dei soggetti affetti da immunodeficienze primitive per i quali è controindicata la vaccinazione con virus vivi attenuati non dovrebbero ricevere OPV (peraltro non più inserito nel calendario vaccinale italiano), dal momento che questo virus può essere diffuso nell'ambiente familiare; al contrario si consiglia la vaccinazione contro Morbillo, Parotite, Rosolia e Varicella perché questi virus vaccinali non vengono trasmessi.^{1,3} Lo stesso dicasi per il *Rotavirus*. Nel caso il convivente, dopo vaccinazione contro la Varicella, sviluppi un esantema, il rischio di trasmissione del virus è minimo a meno che l'esantema non sia vescicolare. In tal caso va evitato il contatto con il paziente immunocompromesso. Se, inavvertitamente, il contatto avviene, il rischio di trasmissione risulta comunque basso. È raccomandata anche la vaccinazione anti-influenzale con il vaccino inattivo.

Conclusioni

In conclusione, per quanto riguarda i vaccini costituiti da antigeni purificati/inattivati, non esistono rischi connessi alla loro somministrazione; essi possono però risultare inefficaci. Per quanto riguarda la somministrazione di vaccini costituiti da virus vivi attenuati (Morbillo, Parotite e Rosolia) va considerato caso per caso. Non si è parlato della vaccinazione antivariella perché al riguardo non vi sono dati disponibili, ma quanto detto per il vaccino contro Morbillo, Parotite e Rosolia si suppone valga anche per la vaccinazione contro la Varicella.

Ovviamente, per motivi di spazio, abbiamo limitato la nostra trattazione solo ad alcune forme di immunodeficienza, rimandando, per ulteriori e più completi approfondimenti, agli articoli citati nel testo.



KEYPOINTS

- La sicurezza e l'efficacia dei vaccini nei soggetti con immunodeficienze primitive dipendono dal tipo di immunodeficienza e dal vaccino considerato.
- Non esistono rischi connessi alla somministrazione di vaccini costituiti da antigeni purificati/inattivati; essi possono però risultare inefficaci.
- La somministrazione di vaccini costituiti da virus vivi attenuati va considerata caso per caso, tenendo in considerazione il grado di compromissione immunologica da cui il paziente è affetto.
- I virus vaccinali contro Morbillo, Parotite, Rosolia e Varicella non si diffondono nell'ambiente familiare e quindi queste vaccinazioni sono consigliate per i familiari dei soggetti affetti da immunodeficienze primitive.

Bibliografia

1. Shearer WT et al. Recommendations for live viral and bacterial vaccines in immunodeficient patients and their close contacts. *J All Clin Immunol* 2014; 133(4): 961-6.
2. Cunningham-Rundles C, Warnatz K. Hypogammaglobulinemia and common variable immunodeficiency. In Stiehm's *Immune Deficiencies* (eds. Sullivan KE, Stiehm RE), 2014, pg. 347-361.
3. American Academy of pediatrics. Immunization in special clinical circumstances. In : Pickering LK, Baker CJ, Kimberlin DW, Long SS, editors. *Red Book 2012 Report of the Committee on Infectious Diseases*. Elk Grove Village (IL): American Academy of Pediatrics 2012; pp.74-90.
4. Bakare N et al., Severe combined immunodeficiency (SCID) and rotavirus vaccination: reports of the Vaccine Adverse Events Reporting System (VAERS). *Vaccine* 2010; 28: 6609-12.
5. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Addition of Severe Combined Immunodeficiency as a contraindication for administration of Rotavirus vaccine. *MMRW* 2010; 59(22): 687-8.
6. Al-Sukaiti N et al., Safety and efficacy of measles, mumps and rubella vaccine in patients with DiGeorge Syndrome. *J All Clin Immunol* 2010; 126(4): 868-9.
7. Azzari C et al., Safety and immunogenicity of measles-mumps-rubella vaccine in children with congenital immunodeficiency (DiGeorge syndrome). *Vaccine* 2005; 23: 1668-71.
8. Moylett EH et al. Live viral vaccines in patients with partial DiGeorge syndrome: clinical experience and cellular immunity. *Clin Immunol* 2004; 112: 106-12.

Consulenza genetica

C. Cancrini, A. Tommasini, G. Di Matteo

La consulenza genetica deve fornire al paziente e/o ai familiari informazioni concernenti la modalità di trasmissione e il rischio di sviluppare e trasmettere la malattia. L'obiettivo è di discutere l'indicazione a eseguire analisi genetiche (**consulenza pre-test**) o il significato di un risultato genetico (**consulenza post-test**) con il paziente e/o con i suoi familiari.

CONSULENZA GENETICA

La consulenza genetica deve fornire al paziente o ai familiari a rischio informazioni relative al:

- quadro patologico che può essere ereditato;
- modello di trasmissione e rischio di sviluppare e trasmettere la malattia.

Deve inoltre comunicare:

- le possibili modalità di prevenzione della malattia e le eventuali scelte terapeutiche considerando le diverse opzioni correlate al rischio di sviluppare la malattia.

Le informazioni devono essere chiare e comprensibili



DIAGNOSI DEFINITIVA

Gene noto e variante causativa associata chiaramente al genotipo-fenotipo clinico

CASI ATIPICI

1

Varianti in geni non associati al fenotipo **classico/conosciuto** clinico del paziente

2

Varianti in geni la cui funzione non è attinente o descritta associata al fenotipo

Ulteriori studi per chiarirne il ruolo reale

La consulenza pre-test ha lo scopo di fornire al paziente informazioni adeguate a comprendere le motivazioni per cui è stata proposta l'analisi, per il paziente (diagnosi, prognosi, scelta terapeutica) o per i familiari (analisi del rischio di ricorrenza). Dovranno essere discussi i potenziali vantaggi della conoscenza delle cause genetiche della malattia, ma anche i potenziali rischi legati all'eventualità che si giunga a risultati di difficile interpretazione o all'identificazione incidentale di condizioni diverse da quelle oggetto dell'analisi. Solo per fare un esempio, lo studio di una malattia recessiva legata al cromosoma X potrebbe incidentalmente rivelare la presenza, nel paziente o nei suoi familiari, di maschi con due cromosomi X (cariotipo XXY o sindrome di Klinefelter). **Il paziente e i familiari dovrebbero da subito essere informati della possibilità di trovarsi di fronte a vari tipi di risultati inattesi ed esprimere a priori il loro consenso a essere informati o meno di questo tipo di risultati.** Ancora, sempre per l'esempio dei difetti

recessivi legati al cromosoma X, il genetista dovrà chiarire al paziente e ai familiari se sia possibile eseguire un'analisi di portatrice su una sorella minore non malata, al meglio delle interpretazioni bioetiche del momento. Le informazioni necessarie e la relativa discussione possono presentare a volte notevole complessità, ma il genetista dovrà sempre assicurarsi di aver utilizzato un linguaggio comprensibile per le persone che ha di fronte e di aver dato loro sufficienti opportunità di porre domande e richiedere chiarimenti che dovranno consentire una scelta autonoma e consapevole.

Dovrà essere chiarito da subito quali sono i possibili vantaggi di una diagnosi genetica in termini di prognosi e di scelta terapeutica. A questo proposito, è raccomandabile che il genetista lavori in sinergia con l'équipe multidisciplinare che si prenderà cura del paziente, sia a livello medico (previsione dei rischi e benefici delle terapie), sia a livello biologico (indicazione a eseguire approfondimenti biologico-funzionali post-test, in casi con risultati genetici di non univoca interpretazione).

La consulenza post-test ha lo scopo di interpretare i risultati delle analisi genetiche in rapporto alle caratteristiche cliniche e familiari della malattia. In molti casi sarà possibile utilizzare conoscenze ben consolidate riguardanti le relazioni tra un determinato genotipo e la gravità del fenotipo associato. Di facile interpretazione sono le varianti causative, cui è stato già attribuito un valore patogenetico certo e appartenenti a geni associati a malattia o, in alternativa, le varianti, pur non descritte, che risultano in una chiara perdita di funzione di un gene noto che si associa a malattia. Tuttavia, le nuove tecnologie di analisi hanno evidenziato numerose mutazioni mai descritte in precedenza, cui è difficile dare un significato univoco.

In questi casi l'analisi bioinformatica potrà fornire elementi utili a predire se la variante genetica identificata possa interferire con la funzione proteica. Lo studio di altri casi familiari fornirà informazioni preziose in tal senso. A volte, però, tutto questo potrebbe non essere sufficiente a predire la rilevanza di una determinata variante genetica e la prognosi della malattia, o a guidare nel modo più sicuro la scelta terapeutica, soprattutto di fronte a scelte radicali come il trapianto di cellule staminali emopoietiche. In questi casi è importante condividere con il paziente e i familiari il grado di dubbi e certezze, coinvolgendo l'intera équipe diagnostico-terapeutica per valutare la possibilità di eseguire ulteriori approfondimenti o tentativi terapeutici.

Da un lato, quindi, la consulenza genetica per un'immunodeficienza classica, espressa con segni clinici, immunologici e genetici coerenti, è poco più di una routine utile al completamento diagnostico e terapeutico. Dall'altro, l'attenzione a forme nuove di difetti immunitari, quali la suscettibilità a infezioni da particolari germi, insieme all'ampliamento delle possibilità di analisi molecolare ha determinato casi di consulenza genetica dai contorni incerti e sfumati, che possono essere affrontati soltanto in Centri dove esistano le necessarie competenze multidisciplinari.

Premesso questo, nell'ambito delle IDP la possibilità di effettuare una corretta consulenza deriva dalla conoscenza approfondita di queste malattie. Con l'eccezione del difetto di IgA, che rappresenta la malattia più comune con una prevalenza da 1:300

a 1:500 individui, le IDP sono malattie rare e la loro incidenza è molto variabile (da 1/10.000-20.000 nell'Immunodeficienza Comune Variabile [CVID] a 1:1.000.000 nelle forme più rare). La maggior parte delle IDP, tranne le CVID, sono diagnosticate nell'infanzia, con una predominanza 5:1 di maschi a causa della maggior frequenza di forme con eredità legata al cromosoma X. Circa il 40% delle IDP non vengono diagnosticate fino all'adolescenza o all'inizio dell'età adulta.

Le modalità di trasmissione che ritroviamo in queste malattie sono principalmente quelle delle leggi di Mendel: autosomica recessiva AR (l'allele mutato deve essere presente in entrambi i cromosomi per determinare un fenotipo clinico malato); recessiva legata all'X e autosomica dominante AD (l'allele mutato determina la malattia anche se presente in un solo cromosoma e si trasmette nelle generazioni successive). In alcuni casi la mutazione non è trasmessa dai genitori ma insorge *de novo*.

Le malattie autosomiche recessive sono descritte più frequentemente; probabilmente perché spesso associate a fenotipi più gravi e quindi più facilmente identificabili. Originano dall'unione tra eterozigoti asintomatici e si manifestano in media in un quarto (25%) dei figli, indipendentemente dal loro sesso. Un fattore di rischio è la consanguineità dei genitori, che trasmettono la stessa mutazione al figlio affetto ereditata da un antenato comune (omozigosi). Se i due genitori sono invece portatori di mutazioni diverse, il figlio affetto si definisce eterozigote composto. L'albero genealogico delle malattie autosomiche recessive presenta una trasmissione orizzontale poiché colpisce fratelli e sorelle, mentre gli altri collaterali sono sani. Se la malattia è sufficientemente rara e i genitori non sono consanguinei, il rischio di occorrenza tra i figli dei fratelli non affetti è trascurabile. Le mutazioni recessive di solito determinano una perdita di funzione denominata *Loss Of Function* (LOF). Esempi di IDP trasmesse come caratteri autosomici recessivi sono tutte le SCID quali quelle dovute a mutazioni nei geni *RAG1*, *RAG2*, *JAK3*, *IL7R* e molte altre.

La maggior parte delle mutazioni localizzate sul cromosoma X segrega in maniera recessiva e si manifesta quindi nei maschi che hanno ereditato l'allele mutato, che sono definiti emizigoti. La malattia è trasmessa da madri eterozigoti, clinicamente non affette, alla metà dei figli maschi (affetti) e alla metà delle figlie femmine (eterozigoti). Maschi non affetti all'interno della famiglia non trasmettono mai la mutazione. Un maschio affetto trasmetterà l'allele mutato a tutte le figlie femmine (eterozigoti) e a nessun figlio maschio. Anche in questo caso la mutazione può insorgere *de novo*. Esempi di IDP X-linked sono la malattia di Bruton (agammaglobulinemia legata al cromosoma X), alcune forme di CGD (*Chronic Granulomatous Disease*), e le SCID da mutazioni nel gene della *common gamma chain* (*IL2RG*) e molte altre.

Una malattia recessiva legata al cromosoma X può manifestarsi occasionalmente in una femmina eterozigote se l'inattivazione della X ha perso le caratteristiche di casualità, come descritto nella CGD.

Nelle malattie autosomiche dominanti (AD), le mutazioni possono essere LOF o in alternativa aumentare o modificare la funzione di una determinata proteina (sono

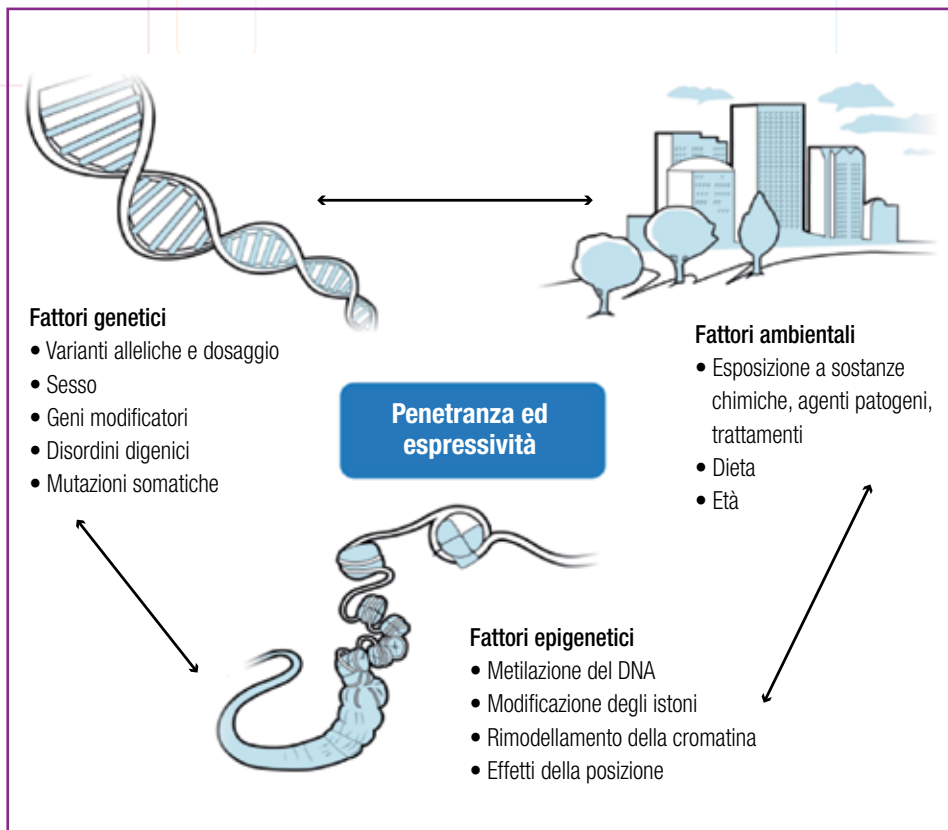


definite in questi casi *Gain Of Function*, GOF, o *interfering of function*). Un esempio recente è la sindrome APDS (*Activated Phosphoinoside 3 Kinase [PI3K] Delta Syndrome*) dovuta a un'iper-attivazione della "pathway" del PI3K e causata da mutazioni genetiche a carico o della subunità enzimatica p-110 δ o regolatoria p85. In questa sindrome, la persistente attivazione dei linfociti che ne consegue comporta un quadro clinico caratterizzato da infezioni respiratorie gravi, bronchiectasie, infezioni erpetiche persistenti, patologie autoimmunitarie e, in una significativa percentuale dei casi (11%), lo sviluppo di patologie linfoproliferative. Gli alberi genealogici delle malattie autosomiche dominanti sono caratteristici e presentano proporzioni simili fra maschi e femmine. Il carattere segrega in maniera verticale senza salto di generazione dal momento in cui compare nella famiglia. La probabilità teorica di ogni figlio di ricevere l'allele mutato è $\frac{1}{2}$ ma la casualità della segregazione può, su un piccolo numero di concepimenti, non rispettare le attese.

Con l'avvento delle nuove tecnologie di *Next Generation Sequencing* (NGS), le patologie dovute a un solo allele mutato sono in forte espansione, così come si sta definendo meglio il termine di gene modificatore inteso come funzione in grado di influenzare la penetranza e il fenotipo associato a un gene-malattia.

Nel corso degli ultimi decenni numerosi studi e le scoperte di nuove immunodeficienze hanno rivelato l'elevato grado di eterogeneità genetica e fenotipica di queste malattie. Le manifestazioni cliniche sono molto variabili e condizionate da altri fattori (es. ambientali, epigenetici) (Figura 1), quindi soggetti affetti da IDP mostrano una vasta gamma di sintomi clinici anche all'interno della stessa famiglia.

Figura 1. Le manifestazioni cliniche delle immunodeficienze sono molto variabili e condizionate da diversi fattori (ambientali, epigenetici, ecc.)



Mod. da Lenardo M. *Genomics of Immune Diseases and New Therapies. Annu Rev Immunol. 2016*

D'altra parte, molte immunodeficienze presentano un fenotipo clinico e immunologico comune, anche se causate da mutazioni in geni diversi. Mentre alcuni quadri d'immunodeficienza sono ben definiti e correlati alla mutazione identificata, in altri casi mutazioni in geni noti sono associate a quadri clinici e immunologici differenti. Infatti, è stato evidenziato, sempre di più grazie alle tecniche innovative d'indagine genetica NGS che permettono l'analisi simultanea di gruppi di geni, che mutazioni ipomorfe in diversi geni associati a IDP possono causare fenotipi clinici "atipici" estremamente variabili. Un esempio di quest'ampia variabilità è ben rappresentato dai quadri clinici e immunologici associati a mutazioni a carico dei geni *RAG1-2* (*Recombination-Activating Gene*) coinvolti nella ricombinazione VDJ che ha un ruolo cruciale nello sviluppo dei linfociti T e B. Le manifestazioni vanno da un quadro

d'immunodeficienza grave combinata (SCID) a forme con esordio più tardivo e atipiche che possono non essere facilmente riconosciute: sindrome di Omenn, leaky SCID, CID/GA (*Combined immune deficiency with granuloma and/or autoimmunity*) ICL (CD4-penia isolata) fino a casi isolati di difetto di IgA. Studi su modelli animali e nei pazienti affetti hanno in parte spiegato i diversi meccanismi alla base di questa variabilità.

L'identificazione di una mutazione a carico di un gene permette di accelerare la diagnosi e quindi il trattamento che ne deriva. Infatti, in molti casi di IDP la diagnosi deve essere tempestiva, per prevenire infezioni gravi e/o danni irreversibili d'organo che potrebbero influenzare gli esiti di un trattamento specifico e definitivo come il trapianto di cellule staminali o della terapia genica. È importante sottolineare nei quadri clinico/immunologici chiari d'immunodeficienza che le decisioni cliniche e terapeutiche possono essere intraprese prima di conoscere la diagnosi molecolare. Tuttavia, l'identificazione del gene mutato responsabile, anche se ottenuta successivamente, ci permetterà di comprendere al meglio le relazioni tra genotipo e fenotipo di malattia e soprattutto di effettuare una consulenza genetica familiare riguardo al rischio di ricorrenza della malattia.

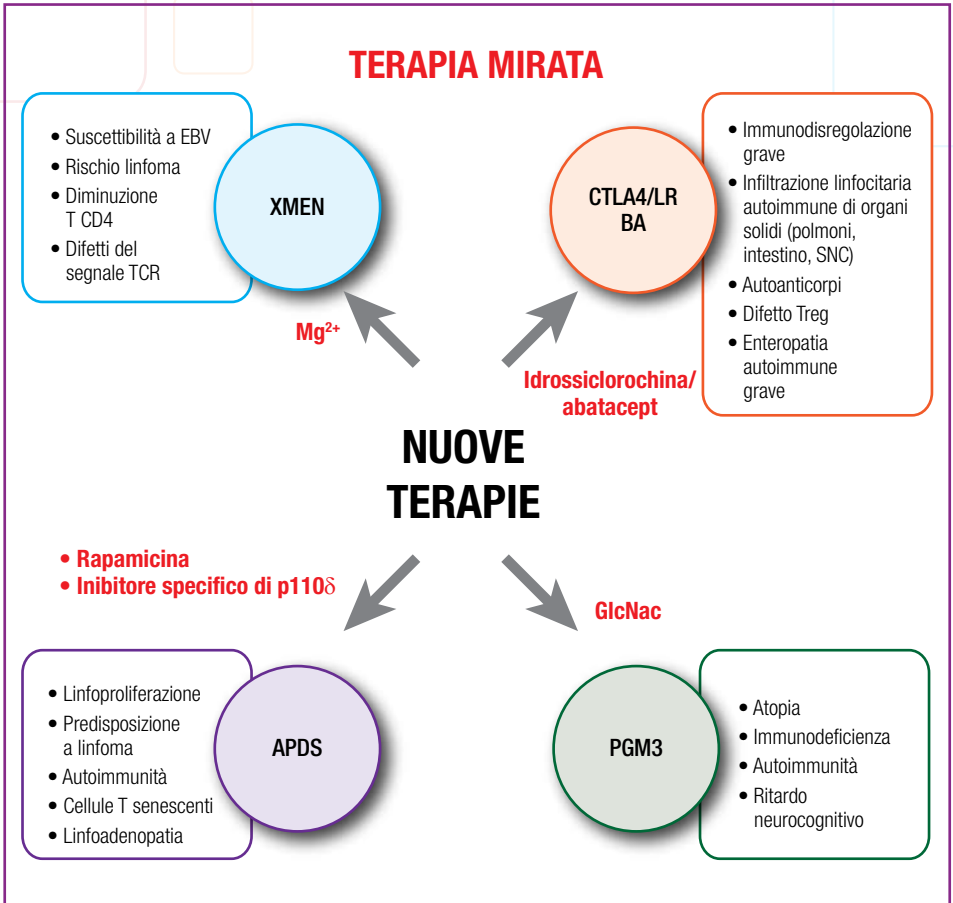
Esiste un parere concorde riguardo all'effettuazione di una diagnostica genetica quanto più tempestiva possibile di fronte alle immunodeficienze primitive, soprattutto perché alcune malattie possono essere oggi trattate con terapie "di precisione", cioè basate su farmaci in grado di agire specificamente sulle molecole o sulle funzioni difettose.

L'identificazione rapida di geni causativi può portare a:

- impiego della terapia genica che può essere utilizzata per correggere il difetto. La terapia genica è più facilmente applicabile alle malattie monogeniche del sistema immunitario o ematopoietico, come dimostrato prima in modelli sperimentali e in seguito nel trattamento dei pazienti affetti da SCID dovute a difetti nel gene IL2RG o nel gene ADA. A questo proposito, va sottolineato che nel Maggio 2016 è stata autorizzata dalla Commissione Europea "Strimvelis" la prima terapia genica *ex vivo* con cellule staminali per i pazienti affetti da ADA-SCID. Grazie alle nuove tecnologie del *gene editing* il campo di applicazione della terapia genica nelle IDP si potrà espandere ancora di più;
- trattamenti inaspettati, come la semplice somministrazione di solo magnesio in un quadro d'immunodeficienza combinata recentemente descritta dovuta al difetto di MAGT1: un trattamento senza dubbio meno costoso e rischioso di un trapianto di midollo.

In Figura 2 sono schematizzati nuovi trattamenti impiegati nella cura e nel controllo di alcune immunodeficienze di recente identificazione.

Figura 2. Sviluppo di nuove terapie mirate, alla base della medicina personalizzata.



Il sequenziamento del DNA genomico rappresenta l'approccio standard per identificare nuove mutazioni associate a IDP. Come abbiamo accennato sopra, la necessità di una diagnosi tempestiva, in particolar modo di fronte a quadri clinici atipici ed eterogenei, ha portato alla creazione d'innovative piattaforme NGS in grado di analizzare la sequenza di gruppi di geni fino all'intero esoma o genoma del paziente (WES, WGS).

Lo svolgimento della consulenza genetica per i test eseguiti con metodiche tradizionali e con NGS non differisce. Anche in questo caso devono essere previste una fase pre- e una post-test, ed è necessario provvedere alla sottoscrizione di un consenso informato specifico da parte del probando. La conferma delle mutazioni va sempre eseguita successivamente con metodica tradizionale Sanger.

Rispetto alle analisi molecolari tradizionali, le tecnologie NGS presentano notevoli differenze riguardo al contenuto informativo, soprattutto in caso di analisi non limitate a pannelli di geni candidati. Tra le questioni emerse dall'utilizzo delle metodiche NGS vi è l'identificazione di variazioni di sequenza a carico di geni implicati in patologie non correlate con il quadro clinico che ha suggerito l'accertamento, soprattutto quando l'utilizzo di queste metodiche è esteso ad ampi numeri di geni o all'intero genoma (WES, WGS). Per un approfondimento in questo senso rimandiamo al documento: "Il sequenziamento del DNA di nuova generazione: indicazioni per l'impiego clinico" a cura della commissione SIGU-NGS.

Un approccio che integri le informazioni provenienti dall'analisi del genoma umano, con quelle che derivano dal fenotipo clinico e dai dati sperimentali (molecolari, biochimici e cellulari), è fondamentale per comprendere i meccanismi sia patogenetici sia fisiologici alla base del funzionamento del sistema immunitario. Un obiettivo importante è quello di definire un particolare fenotipo clinico/cellulare/biochimico come un "marker" di malattia che può essere integrato dai dati molecolari per velocizzare la diagnosi e migliorare la gestione della malattia. Saranno quindi necessari, nel futuro, ulteriori sforzi per integrare i dati molecolari con quelli biologici e clinici di diverse malattie, al fine di individualizzare al meglio i diversi trattamenti.

Ringraziamenti

Gli autori ringraziano le dottoresse Cristina Cifaldi e Alessia Scarselli per la preziosa collaborazione alla stesura di questo capitolo

Bibliografia

- Dallapiccola – Novelli. Genetica medica essenziale Editore: Cic , Edizione: III 2012.
- Il sequenziamento del DNA di nuova generazione: indicazioni per l'impiego clinico. A cura della commissione SIGU-NGS. <http://www.sigu.net/show/documenti/5/1/linee%20guida>
- Bonilla FA et al. Practice parameter for the diagnosis and management of primary immunodeficiency. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2005; 94(5 Suppl 1): S1-S63.
- Lim MS, Elenitoba-Johnson KS. The molecular pathology of primary immunodeficiencies. *J Mole Diagn* 2004; 6(2): 59-83.
- Tangsinmankong N, Bahna SL, Good RA. The immunologic work-up of the child suspected of immunodeficiency. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2001; 87(5): 362-9.
- Ochs HD, Hagin D. Primary immunodeficiency disorders: general classification, new molecular insights, and practical approach to diagnosis and treatment. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2014; 112(6): 489-95.
- Coulter T et al. The broad clinical spectrum and unexpected features of Activated PI3-kinase Delat Syndrome; large patient cohort study *JACI*. *J Allergy Clin Immunol* 2016 Jul 16.
- Lenardo M, Lo B, Lucas CL. Genomics of Immune Diseases and New Therapies. *Annu Rev Immunol*. 2016; 34: 121-49.
- Lee YN et al. A systematic analysis of recombination activity and genotype-phenotype correlation in human recombination-activating gene 1 deficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2014; 133(4): 1099-108.
- Marrella V et al. Rag defects and thymic stroma: lessons from animal models. *Front Immunol* 2014; 5: 259.
- Hacein-Bey-Abina S et al. A modified γ -retrovirus vector for X-linked severe combined immunodeficiency. *N Engl J Med* 2014; 371(15): 1407-17.
- Cicalesse MP, Aiuti A. Clinical applications of gene therapy for primary immunodeficiencies. *Hum Gene Ther* 2015; 26(4): 210-9.



Il trapianto di cellule staminali emopoietiche

F. Locatelli, M. Algeri

Pochi i dubbi che il trapianto di cellule staminali emopoietiche (TCSE) abbia completamente rivoluzionato la storia naturale di numerose immunodeficienze primitive (IDP), per la maggior parte delle quali esso rimane, a oggi, l'unica opzione curativa. I primi successi in questo campo risalgono al 1968, anno in cui fu riportata la guarigione di due pazienti affetti da differenti forme di IDP, l'immunodeficienza combinata grave (SCID) e la sindrome di Wiskott-Aldrich (WAS), mediante trapianto di midollo osseo dai rispettivi germani HLA-identici. Da allora, continui avanzamenti scientifici hanno consentito a una proporzione sempre maggiore di bambini affetti da immunodeficienza congenita di trovare, nel trapianto, una cura definitiva per la propria patologia.

In questo senso, il miglioramento delle tecniche trapiantologiche ha fornito un contributo fondamentale con l'affinamento delle metodiche di tipizzazione degli antigeni d'istocompatibilità, l'introduzione di regimi di condizionamento gravati da minor tossicità, l'ottimizzazione delle strategie di profilassi della malattia del trapianto contro l'ospite (GvHD) e di quelle di manipolazione cellulare, abbinati al continuo perfezionamento delle terapie di supporto. L'insieme di questi progressi ha, infatti, consentito di elevare enormemente la sicurezza della procedura trapiantologica, in particolar modo in quei pazienti che, non disponendo di un donatore compatibile all'interno del nucleo familiare, hanno beneficiato del trapianto da donatori alternativi, quali soggetti volontari non consanguinei HLA-compatibili reperiti sui registri internazionali, unità di sangue cordonale e donatori familiari HLA-parzialmente compatibili (per esempio uno dei 2 genitori biologici).

Allo stesso tempo, la maggior consapevolezza della problematica tra i vari professionisti che operano in ambito pediatrico, abbinata al miglioramento delle tecniche diagnostiche, ha consentito una sempre più precoce identificazione dei soggetti affetti da immunodeficienza, permettendo di indirizzare questi pazienti al trapianto più rapidamente e in condizioni generali meno compromesse. Infine, l'implementazione delle metodiche di analisi molecolare ha permesso di definire l'alterazione genetica responsabile dello specifico quadro di IDP in una percentuale crescente di casi, allargando ulteriormente l'indicazione al TCSE, consentendo inoltre di adottare strategie trapiantologiche ottimizzate in rapporto alla specifica diagnosi.

Razionale e indicazioni al trapianto di cellule staminali emopoietiche

L'obiettivo del TCSE nelle IDP è quello di sostituire il compartimento linfoemopoietico alterato del paziente con un patrimonio di cellule staminali, ottenuto da un donatore sano, capace di ricostituire un sistema immunitario funzionante nel ricevente. Il raggiungimento di quest'obiettivo che, nella sostanza, s'identifica con la guarigione si concretizza in una serie di momenti chiave:

1. ablazione totale o parziale del sistema linfoemopoietico del ricevente mediante una combinazione di agenti chemioterapici, sieroterapia e, invero assai raramente nelle IDP, radioterapia (regime di condizionamento) capace da un lato, di "creare spazio" per l'attecchimento delle cellule staminali del donatore, dall'altro, di eliminare le cellule immunitarie responsabili del rigetto, qualora dotate di funzionalità residua;
2. superamento della seconda barriera immunologica, rappresentata dalle cellule immunocompetenti del donatore presenti nella sospensione di cellule staminali infuse e potenzialmente capaci di riconoscere come estranei antigeni tissutali del ricevente, innescando quadri di GvHD;
3. ricostituzione immunologica post-trapianto, cui contribuiscono sia le cellule immunitarie mature presenti all'interno dell'inoculo trapiantato, sia quelle che si sviluppano *ex novo* nel ricevente, a partire dalle cellule staminali emopoietiche, ricapitolando il fisiologico percorso ontogenico. Questa fase si può giovare, come vedremo, almeno nell'immediato periodo post-trapianto, del trasferimento adottivo di elementi cellulari maturi del sistema immunitario del donatore allo scopo di migliorare la difesa nei confronti delle infezioni.

Attualmente, i differenti tipi di IDP per le quali è stato identificato il difetto molecolare responsabile sono oltre 300 e, ogni anno, vengono identificate almeno 10 nuove forme genetiche. Con l'incremento del numero di questi disordini, tra loro diversificati per gravità di manifestazioni cliniche, è contestualmente aumentata anche la complessità dell'individuare quali patologie possono giovare di cura definitiva mediante trapianto e quali, invece, possono beneficiare di un trattamento conservativo. Le principali e attuali indicazioni al trapianto nelle immunodeficienze congenite sono elencate in Tabella 1. Se per alcune forme, quali le SCID, l'indicazione al TCSE non è mai stata in discussione, in quanto per anni unica terapia salvavita, per altre la decisione di procedere al trapianto è stata, o è tuttora, oggetto di controversie. In questo senso, un esempio paradigmatico è rappresentato dalla sindrome da iper-IgE nella sua variante autosomica dominante, causata da una combinazione di alterazioni nelle linee ematopoietiche e non-ematopoietiche secondaria a mutazioni del gene STAT3, in cui il TCSE può curare il difetto a carico di linfociti e cellule mieloidi, ma non ha effetto sulle anomalie del tessuto connettivo e vascolare che caratterizzano la patologia.

Tabella 1. Principali indicazioni al TCSE nelle immunodeficienze primitive

IMMUNODEFICIENZE COMBinate (CID)	
SCID	T-B-NK- (deficit di adenosin-deaminasi e disgenesia reticolare); T-B+NK- (forme X-linked da deficit di catena γ , deficit di: JAK3 chinasi e CD45); T-B-NK+ (deficit di: RAG 1/2, Artemis, Cernunnos, DNA Ligasi 4 e PKcs); T-B+NK+ (deficit di: IL7R α , CD3 $\gamma\delta\epsilon$, Zap70 chinasi e Coronina 1A)
CID	Deficit di CD40L, linfocitopenia CD4, deficit di MHC II, deficit di PNP, sindrome di Omenn, deficit di: MALT1, LCK, STK4, CTPS1
IMMUNODEFICIENZE COMBinate CON DIFETTI ASSOCIATI	
Sindrome di Wiskott-Aldrich, CHARGE, ipoplasia trico-cartilaginea con CID, sindrome di Nijmegen, mutazione attivante di PI3K δ , deficit di: DOCK8, Tyk2, ICF DKC, LRBA, ORAI-1, STIM1	
DEFICIT ANTICORPALI	
Mielodisplasia con ipogammaglobulinemia associata a difetto di GATA-2	
SINDROMI CON DISREGOLAZIONE IMMUNITARIA	
Disordini emofagocitici	Sindromi emofagocitiche familiari (deficit di PRF1, UNC13D, MUNC 18-2, STX11); sindrome di Griscelli tipo 2 (deficit RAB27A); sindrome di Chediak-Higashi (deficit di LYST), forme prive di diagnosi genetica ma con malattia refrattaria/ricorrente, germano affetto, NK assenti e coinvolgimento del Sistema Nervoso Centrale
Disordini linfoproliferativi	XLP1 (deficit di SH2D1A) e XLP2 (deficit di XIAP), deficit di: ITK, CD27 e MAGT1
Disordini con autoimmunità	ALPS (omozigoti), Mutazione attivante di STAT3, deficit di CTLA4
Coliti intratrabili	IPEX, deficit di IL-10 e IL-10r, immunodeficienza con atresie intestinali multiple
DISORDINI DEI FAGOCITI	
Sindrome di Kostmann, sindrome di Schwachman-Diamond, deficit di molecole di adesione leucocitaria, Malattia Granulomatosa Cronica X-linked e AR	
DIFETTI DELL'IMMUNITÀ INNATA	
Deficit: di NEMO, STAT1, STAT5, recettore per INF- γ , recettore per IL-12	

Selezione del donatore e strategie di manipolazione cellulare

La scelta del donatore è di cruciale importanza per l'esito ottimale della procedura trapiantologica e va attentamente ponderata in base alla patologia di base. Nelle SCID, per esempio, in considerazione della necessità di sottoporre urgentemente il paziente a TCSE per evitare il rischio di sviluppare complicanze infettive potenzialmente fatali è ormai consolidato il ricorso a donatori alternativi laddove non vi sia un germano HLA-compatibile. Per contro, in altre forme connotate da andamento clinico meno tumultuoso il trattamento può essere dilazionato in attesa di reperire un donatore HLA compatibile, anche se i notevoli progressi nelle strategie di manipolazione cellulare hanno innalzato la sicurezza del trapianto aploidentico da genitore parzialmente compatibile, al punto da renderlo una soluzione terapeutica estremamente appetibile per un numero sempre più vasto di IDP. Attualmente, ci sono 4 differenti tipi di donatore da considerare per i pazienti affetti da immunodeficienza. Ciascuno di essi presenta peculiari vantaggi e svantaggi, sommariamente riassunti in Tabella 2.

Tabella 2. Vantaggi e svantaggi dei diversi tipi di TCSE

TIPO DI TCSE	VANTAGGI	SVANTAGGI
Trapianto da germano HLA-identico	<ul style="list-style-type: none"> • Donatore prontamente utilizzabile • Basso rischio di rigetto e GvHD • Rapida ricostituzione immunologica 	<ul style="list-style-type: none"> • Bassa probabilità di avere un germano HLA-compatibile nel nucleo familiare (non superiore al 25%)
Trapianto da donatore non consanguineo HLA-identico (<i>matched unrelated donor</i> , MUD)	<ul style="list-style-type: none"> • Ampio pool di potenziali donatori reperibili nei diversi database internazionali • Outcome sovrapponibile al TCSE da donatore germano HLA-compatibile in molte patologie 	<ul style="list-style-type: none"> • Tempo necessario per reperire un donatore e realizzare il trapianto non inferiore ai 3 mesi • Disponibilità di un donatore HLA-identico nell'ordine del 60%
Trapianto di sangue cordonale da donatore non consanguineo	<ul style="list-style-type: none"> • Unità prontamente disponibili nelle banche internazionali • Possibilità di realizzare il trapianto anche da donatori non completamente HLA-compatibili 	<ul style="list-style-type: none"> • Mancato trasferimento adottivo di popolazioni linfocitarie con pregressa memoria immunologica rispetto ai differenti patogeni • Ritardata ricostituzione immunitaria • Limitato numero di cellule staminali
Trapianto da donatore familiare HLA-aploidentico	<ul style="list-style-type: none"> • Realizzabile in praticamente tutti i bambini con IDP • Prontamente disponibile • Possibilità di approcci di terapia cellulare 	<ul style="list-style-type: none"> • Necessità di manipolazione cellulare (T-deplezione) • Maggiore rischio di rigetto • Ritardata ricostituzione immunologica

1. Trapianto da germano HLA-identico (sibling)

Il trapianto da donatore familiare HLA-identico è universalmente considerato il *gold standard*, essendo caratterizzato da un rapido attecchimento, da un rischio relativamente basso di GvHD e da una rapida ricostituzione immunologica completa del ricevente. La principale limitazione di questo approccio è rappresentata dalla mancanza di un donatore compatibile. I geni del complesso HLA (localizzati sul braccio corto del cromosoma 6), infatti, sono strettamente associati tra loro e si trasmettono in modo co-dominante mediante un blocco unico d'informazione genetica, chiamato "aplotipo". Per tale motivo, ogni figlio eredita un aplotipo dal padre e uno dalla madre (vedi anche Figura 1) e, in virtù di tale meccanismo, la probabilità di compatibilità tra fratelli è del 25%.

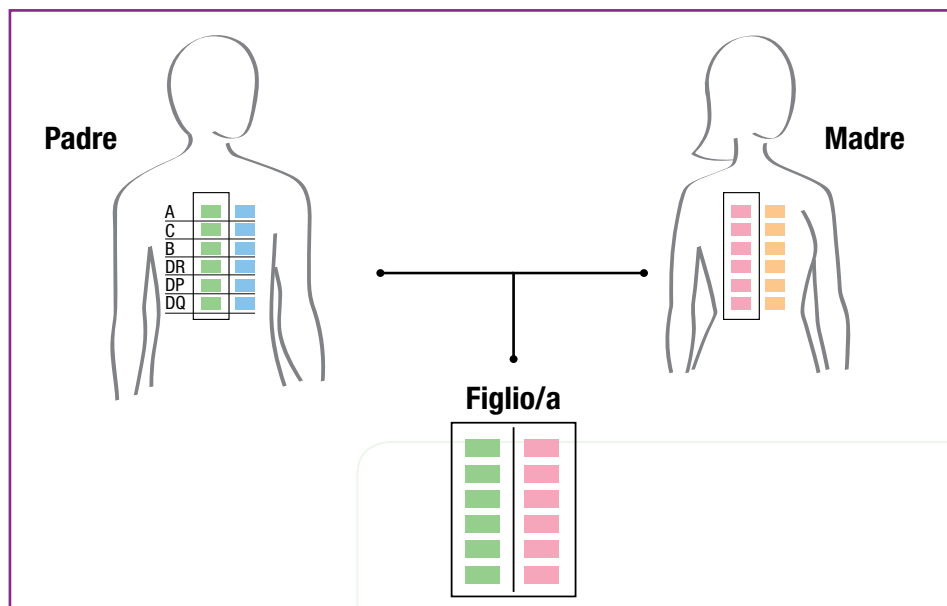


Figura 1. Ereditarietà e aplotipo

2. Il trapianto da donatore non consanguineo HLA-identico (MUD)

Considerando la modalità co-dominante della ereditarietà del sistema HLA e alla luce della contrazione demografica osservata nelle ultime decadi nei Paesi occidentali, è evidente che solo una minoranza dei pazienti che potrebbero beneficiare di un trapianto possiede un donatore HLA-identico all'interno della fratria. A partire dai primi anni '80, l'istituzione di registri internazionali di Midollo Osseo, in cui sono registrati oltre 28.000.000 di potenziali donatori, cui vanno sommate oltre 600.000 unità di sangue cordonale, ha reso possibile l'accesso alla procedura trapiantologica per un numero sempre crescente di soggetti. La probabilità di reperire un donatore non consanguineo HLA-identico è stimabile oggi nell'ordine del 60%, dipendendo, tuttavia, in

larga parte dalle caratteristiche immunogenetiche e dall'etnia del ricevente. Pazienti di origine caucasica hanno, infatti, una probabilità di identificare un donatore compatibile maggiore rispetto a pazienti di origine africana o ispanica, in quanto i gruppi etnici da cui originano questi pazienti sono assai meno rappresentati nei registri rispetto al gruppo caucasico. Non deve essere sottovalutato il tempo necessario per identificare un idoneo donatore non consanguineo, in quanto, non infrequentemente, i bambini con IDP (soprattutto quelli affetti da SCID) rappresentano una vera e propria urgenza trapiantologica.

3. Il trapianto da cordone ombelicale

Negli ultimi due decenni numerosi sono stati gli studi che hanno investigato l'idoneità del sangue cordonale come sorgente alternativa di cellule staminali emopoietiche. Il trapianto di sangue cordonale ha l'indubbio vantaggio di rappresentare una fonte di progenitori emopoietici immediatamente disponibile e studi effettuati nella popolazione pediatrica hanno dimostrato una sopravvivenza globale e una sopravvivenza libera da malattia sovrapponibili al trapianto da un donatore non correlato. Come già menzionato, oggi, nel mondo, sono conservate, dopo opportuna caratterizzazione e crioconservazione, più di 600.000 unità di sangue cordonale e con le cellule emopoietiche in esse contenute sono stati eseguiti più di 30.000 trapianti allogenici. I principali svantaggi del trapianto di sangue cordonale sono rappresentati dalla ritardata ricostituzione immunologica, legata principalmente alla presenza di cellule immunitarie senza pregressa esperienza immunologica rispetto ai vari patogeni, e al limitato volume delle unità stoccate, che determina un ridotto numero di cellule staminali infuse e, di conseguenza, può precludere questo tipo di soluzione ai pazienti con peso corporeo elevato. La dose cellulare infusa (normalmente espressa in termini di cellule nucleate totali per Kg del ricevente, TNC/Kg), insieme al *matching* HLA per i loci A, B, C e DR, rappresenta, infatti, il principale determinante per il successo di questo tipo di trapianto. Tenendo in considerazione che i due fattori sono fra loro intimamente connessi, in caso di una disparità immunogenetica maggiore nella coppia donatore/ricevente è necessario disporre di una maggiore dose cellulare per raggiungere l'outcome desiderato. È largamente consigliabile non impiegare nelle IDP unità di sangue cordonale con disparità immunogenetica superiore a 1-2 *loci* del sistema HLA.

4. Il trapianto da donatore aploidentico

Il trapianto da donatore HLA-aploidentico (o donatore familiare HLA-parzialmente compatibile) si connota per indubbi vantaggi, tra i quali: l'immediata disponibilità, almeno virtualmente, per tutti i pazienti (di cruciale importanza nelle SCID, quando è necessario procedere rapidamente verso il TCSE), la possibilità di scegliere il miglior donatore tra tutti i familiari disponibili secondo determinate connotazioni immunogenetiche e la possibilità di far ricorso al donatore in caso di necessità di terapie cellulari. Tuttavia, questo tipo di trapianto presenta diverse problematiche, principalmente concernenti il superamento della barriera HLA nella coppia donatore/ricevente. La messa a punto di tecniche in grado di ottenere una deplezione estensiva dei T linfociti del



donatore, responsabili dello sviluppo della GvHD, dall'inoculo trapiantato e la possibilità di ottenere numeri assai elevati di progenitori emopoietici dal sangue periferico dei donatori hanno consentito di superare in larga parte questi ostacoli. In particolare, l'ottenimento di 4 logaritmi di T-deplezione delle cellule trapiantate e l'infusione di una mega-dose di progenitori ematopoietici (definita come un numero di cellule CD34+ superiore a $10\text{-}12 \times 10^6/\text{Kg}$ di peso corporeo del ricevente) si sono dimostrate cruciali per garantire un'elevata probabilità di attecchimento dell'emopoiesi del donatore, senza concomitante sviluppo di GvHD. Il principale problema da cui è gravato il trapianto HLA-aploidentico nelle IDP è rappresentato dalla ritardata ricostituzione immunologica, dovuta all'assai limitato numero di linfociti T del donatore trasferiti con l'infusione di cellule staminali, che si traduce sul piano clinico in una marcata incidenza di patologia infettiva. Negli ultimi anni, il miglioramento delle strategie di manipolazione cellulare, in grado di rimuovere specificatamente i linfociti che mediano la GvHD trattando, invece, le cellule dotate di attività anti-infettiva, ha determinato un sensibile miglioramento dell'outcome trapiantologico. In questo senso, l'approccio attualmente più impiegato prevede la rimozione selettiva di linfociti T che portano sulla loro superficie cellulare le catene $\alpha\beta$ del *T-cell receptor* e di linfociti B CD19+ mediante l'impiego di biglie immuno-magnetiche. Grazie a questa metodica, che permette di infondere, oltre ai progenitori emopoietici, anche altre cellule ancillari dell'immunità innata, in particolare le cellule *Natural Killer* (NK) e i T-linfociti che portano sulla loro superficie cellulare le catene $\gamma\delta$ del *T-cell receptor*, è stato possibile raggiungere tassi di sopravvivenza libera da malattia superiori al 90%. In questi pazienti, per ridurre ulteriormente il rischio

di eventi infettivi e la mortalità legata al trapianto sono state sviluppate strategie di trasferimento adottivo di cellule immunologicamente competenti manipolate *ex vivo*. Diversi gruppi hanno messo a punto, partendo da cellule mononucleate del donatore, protocolli per la generazione di linee cellulari o cloni T specifici per i principali agenti patogeni responsabili di complicanze post-trapianto, in particolare virus (CMV, EBV, e adenovirus) e miceti (Aspergillo). Giova ricordare che, soprattutto nei pazienti con SCID, queste infezioni possono essere già presenti al momento dell'avvio della procedura trapiantologica. L'elevato impegno richiesto, tuttavia, in termini di tempo per la preparazione di questi prodotti di terapia cellulare, i costi a essa inerenti e la necessità di una qualificazione ed esperienza tecnica per la generazione di queste linee o cloni ne limita l'impiego a pochi Centri trapiantologici. Un'altra intrigante strategia per il miglioramento della ricostituzione immunologica consiste nell'infusione di linfociti T policlonali ingegnerizzati per esprimere geni suicidi attivabili da farmaci o sostanze inerti nel caso, dopo l'infusione, si sviluppi GvHD non controllabile con le terapie convenzionali. Il primo approccio di questo tipo si basa sulla trasfezione dei linfociti T con il gene suicida HSV timidin kinasi (HSV-TK), attivabile grazie all'infusione di ganciclovir, farmaco routinariamente impiegato nelle infezioni/riattivazioni d'infezione da *Cytomegalovirus*. Il secondo sfrutta, invece, il *pathway* dell'apoptosi indotta dalle caspasi; le cellule T del donatore vengono modificate con un transgene codificante per una caspasi 9, la cui attivazione è inducibile mediante una molecola inerte (AP1903). L'infusione di questa molecola determina l'apoptosi del 90% dei linfociti T modificati entro 30 minuti dall'infusione, con controllo della GvHD. Rispetto a HSV-TK, il gene suicida della caspasi-9 inducibile, oltre a non essere immunogenico, possiede un più rapido meccanismo d'azione e permette di poter impiegare ganciclovir qualora se ne ponga l'opportunità/necessità.

Il regime di condizionamento

Dopo la diagnosi di IDP, il riconoscimento dell'indicazione al TSCE e l'identificazione di un donatore, la scelta del regime di condizionamento rappresenta un punto di cruciale importanza per il successo della procedura trapiantologica. È, infatti, ormai noto che non tutte le forme di IDP beneficiano allo stesso modo del medesimo schema di preparazione al trapianto. Tuttavia, per quanto un approccio orientato in base allo specifico difetto fenotipico o genotipico sia in grado di offrire le migliori possibilità di sopravvivenza a questi pazienti, quale sia la strategia ideale nei diversi sottotipi di IDP è ancora oggetto di dibattito tra gli esperti del settore. Nei difetti severi e globali, come le SCID, la profonda disfunzione immunologica determina un basso rischio di rigetto del trapianto. Non sorprende, a tal proposito, che alcuni pazienti con particolari varianti di SCID, quali le forme NK-negative, possano ottenere un elevato livello di attecchimento selettivo e persistenza del compartimento T-cellulare anche in assenza di chemioterapia di preparazione al trapianto. In questi casi, al vantaggio

dell'assenza di tossicità da chemioterapia impiegata durante la preparazione al trapianto si contrappone lo svantaggio della mancanza di attecchimento multilineare, in particolar modo delle cellule B. Il mancato attecchimento delle cellule B linfocitarie del donatore si traduce frequentemente nella necessità di una prolungata/permanente supplementazione post-trapianto con immunoglobuline aspecifiche. Sul lungo termine, inoltre, questi pazienti sono a rischio di sviluppare un progressivo esaurimento delle cellule T linfocitarie del donatore inizialmente attecchite. Nei pazienti affetti da SCID con presenza di cellule NK funzionanti, queste possono interferire con l'attecchimento dei precursori T-linfocitari e con il processo di timopoiesi, rendendo, pertanto, necessario l'utilizzo di un regime di condizionamento per ottenere una duratura ricostituzione dell'immunità T-cellulare. In altre forme di SCID, secondarie a un difetto molecolare nei meccanismi di riparazione del DNA, è, invece, sconsigliato l'utilizzo di agenti alchilanti, potendo quest'ultimo comportare importanti comorbidità a lungo termine. I pazienti con forme meno severe di IDP presentano immunità T-cellulare residua, capace di mediare il rigetto di trapianti allogenici. Per tale motivo, in questi casi è necessaria una chemioterapia di preparazione per consentire l'attecchimento multilineare e la ricostituzione immunologica (vedasi i pazienti con WAS, in cui la terapia di preparazione può contribuire a eliminare fenomeni di autoimmunità non infrequentemente osservati in questa patologia) o per raggiungere un livello di chimerismo delle cellule del donatore tale da prevenire la recrudescenza della patologia (*e.g.* linfoistocitosi emofagocitica, HLH). Il classico regime di condizionamento mieloablativo, basato sull'impiego di ciclofosfamide, busulfano e siero anti-linfocitario (ATG), è stato largamente utilizzato negli anni in varie forme di immunodeficienza. Questo schema, tuttavia, è gravato da un non trascurabile rischio di tossicità extra-midollare. Per tale motivo, negli ultimi anni, è sempre più diffuso il ricorso ai cosiddetti regimi a intensità ridotta, basati sull'impiego di farmaci a maggior azione immunosoppressiva, come la fludarabina, o di agenti mielosoppressori, quali il treosulfano, gravati da minor tossicità extra-midollare rispetto al busulfano.

Risultati e prospettive future

Si stima che oltre 1.500 TCSE allogenici siano stati eseguiti in Europa e più di 1.000 in Nord-America per pazienti affetti da IDP. Nei pazienti affetti da SCID sottoposti a TCSE da donatore familiare compatibile, il tasso di sopravvivenza è ormai da anni superiore al 90%, mentre si attesta intorno all'80% nei casi in cui s'impieghi un donatore non consanguineo HLA-compatibile. Questa probabilità di sopravvivenza può essere elevata fino a raggiungere i livelli del TCSE da germano HLA-identico quando, in virtù di una diagnosi precoce (spesso facilitata dalla presenza di un altro soggetto affetto all'interno del nucleo familiare), si riesce a eseguire il trapianto poco dopo la diagnosi, momento in cui, usualmente, le condizioni generali non sono ancora state compromesse da infezioni e disfunzioni d'organo. Questo dato sottolinea, inoltre, l'importanza

dell'introduzione di un efficace programma di screening neonatale, i cui vantaggi in termini di rapporto costo/beneficio sono stati recentemente dimostrati in una casistica americana. Nei pazienti affetti da IDP non-SCID, la sopravvivenza libera da malattia dopo TCSE da donatore germano HLA-identico o da donatore non consanguineo HLA-identico è stata storicamente leggermente inferiore rispetto alle SCID, attestandosi tra il 70 e l'80%. Questo dato è andato progressivamente migliorando nel corso degli anni, come dimostra l'esempio paradigmatico dei pazienti affetti da WAS, i quali, se trapiantati dopo l'anno 2000, hanno ottenuto la guarigione completa in quasi il 90% dei casi.

Non vi è dubbio, tuttavia, che i progressi più impressionanti abbiano riguardato l'outcome del trapianto aploidentico da donatore familiare parzialmente compatibile, nel quale il miglioramento delle metodiche di manipolazione cellulare ha consentito di ottenere tassi di sopravvivenza libera da malattia, come già accennato, nell'ordine del 90%. Questi straordinari risultati potranno essere ulteriormente migliorati con l'impiego di strategie per accelerare la ricostituzione immunitaria, in particolar modo quelle basate su geni suicidi. Alla luce di questi dati è auspicabile attendersi, nel prossimo futuro, la conduzione di studi mirati a una valutazione comparativa del trapianto aploidentico con le altre forme di TCSE (MUD, cordone e *sibling*) per definire quale sia la strategia curativa migliore nei pazienti affetti da immunodeficienza congenita e, più generale, nelle patologie emopoietiche non maligne. Nei prossimi anni, inoltre, questo vasto spettro di opzioni terapeutiche è destinato ulteriormente ad arricchirsi attraverso approcci di terapia genica. Questi ultimi, basati sulla correzione *in vitro* del difetto genetico a carico delle cellule staminali autologhe del paziente seguita dalla loro re-infusione, si sono già dimostrati una valida alternativa in soggetti affetti da alcuni sottotipi di SCID (deficit di adenosin-deaminasi e forme X-linked da difetto della catena γ) e, seppur con qualche significativa riserva in termini di cinetica di recupero delle conte piastriniche, nella WAS. Un attento monitoraggio dell'outcome a lungo termine di questi pazienti, in particolare per quanto riguarda la ricostituzione immunologica e il rischio di mutagenesi inserzionale (con il conseguente sviluppo di patologie clonali dell'emopoiesi), potrà meglio definire il ruolo della terapia genica nella gerarchia delle varie opzioni di trattamento. Altrettanto auspicabile è un continuo monitoraggio dei pazienti sottoposti a TCSE per valutare, su larga estensione temporale, non solo quella che è la sopravvivenza, ma anche la qualità di vita dei pazienti affetti da PID.



KEYPOINTS

- Il trapianto di cellule staminali emopoietiche (TCSE) ha rivoluzionato la storia naturale di numerose immunodeficienze primitive a partire dal 1968.
- L'obiettivo del TCSE nelle IDP è sostituire il compartimento linfo-emopoietico alterato del paziente con un patrimonio di cellule staminali di un donatore sano, che possa ricostituire un sistema immunitario funzionante nel ricevente.
- Ci sono 4 differenti tipi di donatore per i pazienti affetti da immunodeficienza: germano HLA-identico, donatore non consanguineo HLA-identico, sangue cordonale da donatore non consanguineo e da donatore familiare HLA-aploidentico.
- Nei prossimi anni questo vasto spettro di opzioni terapeutiche è destinato ulteriormente ad arricchirsi, attraverso approcci di terapia genica.

Bibliografia

1. Picard C, Al-Herz W, Bousfiha A et al. Primary Immunodeficiency Diseases: an Update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee for Primary Immunodeficiency 2015. *J Clin Immunol.* 2015;35(8):696-726.
2. Buckley RH, Schiff SE, Schiff RI et al. Hematopoietic stem-cell transplantation for the treatment of severe combined immunodeficiency. *N Engl J Med.* 1999;340(7):508-16.
3. Gennery AR, Slatter MA, Grandin L et al. Transplantation of hematopoietic stem cells and long-term survival for primary immunodeficiencies in Europe: entering a new century, do we do better? *J Allergy Clin Immunol.* 2010;126(3):602-10.e1-11.
4. Pai SY, Logan BR, Griffith LM et al. Transplantation outcomes for severe combined immunodeficiency, 2000–2009. *N Engl J Med.* 2014;371(5):434-46.
5. Brown L, Xu-Bayford J, Allwood Z et al. Neonatal diagnosis of severe combined immunodeficiency leads to significantly improved survival outcome: the case for newborn screening. *Blood.* 2011;117:3243-6.
6. Kwan A, Abraham RS, Currier R et al. Newborn screening for severe combined immunodeficiency in 11 screening programs in the United States. *JAMA.* 2014;312(7):729-38.
7. Hacein-Bey-Abina S, Pai SY, Gaspar HB et al. A modified γ -retrovirus vector for X-linked severe combined immunodeficiency. *N Engl J Med.* 2014;371(15):1407-17.
8. Hassan A, Booth C, Brightwell A et al. Outcome of hematopoietic stem cell transplantation for adenosine deaminase-deficient severe combined immunodeficiency. *Blood.* 2012;120(17):3615-24.

Immunodeficienze acquisite

C. Montagnani, L. Galli, M. de Martino

Le immunodeficienze acquisite (IDA) rappresentano la maggior parte delle condizioni di difetto immunitario. Si manifestano in soggetti con un normale sistema immunitario in seguito all'esposizione a vari fattori, tra cui infezioni, farmaci, malattie metaboliche e stimoli ambientali. Le manifestazioni cliniche variano a seconda del fattore determinante e della suscettibilità dell'ospite. Si possono distinguere IDA secondarie a condizioni patologiche e IDA iatrogene. La Tabella 1 riassume le principali cause di IDA.

Tabella 1. Principali cause di immunodeficienza acquisita

IMMUNODEFICIENZA ACQUISITA SECONDARIA A CONDIZIONI PATOLOGICHE	IMMUNODEFICIENZA ACQUISITA SU BASE IATROGENA
Virus dell'immunodeficienza umana	Splenectomia
Infezioni virali e batteriche	Timectomia
Neoplasie	Interventi chirurgici
Malattie autoimmuni	Ustioni
Enteropatie protido-disperdenti	Traumi
Sindrome nefrosica	Terapia steroidea prolungata
Insufficienza renale cronica	Farmaci citotossici
Diabete mellito	Farmaci biologici
Malnutrizione proteico-calorica	Radiazioni ionizzanti

Le IDA vanno ben distinte dal quadro delle cosiddette infezioni respiratorie ricorrenti (IRR), che talora qualcuno può erroneamente ritenere conseguenza di un'IDA virus-indotta. Questa convinzione può indurre a inappropriati comportamenti cosiddetti terapeutici. Le IRR si manifestano in bambini senza alcuna alterazione, né primitiva né acquisita, del sistema immunitario e sono la conseguenza di fattori ambientali sfavorevoli (soprattutto la socializzazione precoce e il fumo passivo di tabacco). Le IRR

non sono un'IDA. Si può facilmente distinguere senza indagini e sulla base della sola anamnesi un bambino con IRR da uno con IDA o con una condizione grave di base (immunodeficienza primitiva, fibrosi cistica). Nel primo caso, infatti, il bambino cresce bene, le infezioni sono comparse dall'inserimento in comunità, si presentano solo nella stagione autunno-invernale, sono causate da germi comuni, non si prolungano più dell'atteso né sono più gravi dell'atteso, non vi è coinvolgimento di altri distretti. Il recidivare delle infezioni è innescato dai fattori ambientali sfavorevoli e poi mantenuto dai danni indotti dai virus sull'epitelio respiratorio.

La malnutrizione rappresenta una delle principali cause di IDA, sia quando dovuta a un ridotto apporto proteico-calorico per le scarse condizioni socio-economiche, sia quando dovuta a patologie che determinano stati di cachessia, *in primis* le neoplasie ovvero perdite intestinali o renali di proteine. Inizialmente si sviluppa un difetto numerico e funzionale dei linfociti T, mentre, se lo stato di malnutrizione persiste per un periodo prolungato, compaiono anche difetti di immunoglobuline e della risposta ai vaccini. Alcuni difetti specifici di micronutrienti, tra cui lo zinco e l'acido ascorbico, determinano un'alterazione della barriera mucosale e cutanea, facilitando la penetrazione di patogeni. Il difetto immunologico viene completamente recuperato una volta risolta la malnutrizione.

Nel diabete sono stati riscontrati molti meccanismi che facilitano lo sviluppo di infezioni: difetto della fagocitosi e della chemiotassi dei neutrofilii, difetto funzionale dei linfociti *Natural Killer*, scarsa risposta proliferativa linfocitaria in presenza di antigeni o mitogeni. L'iperglicemia e la neuropatia periferica, inoltre, favoriscono la penetrazione e la proliferazione dei batteri. Un quadro simile può essere riscontrato nei pazienti con obesità grave.

Un'altra importante causa di IDA è rappresentata dalle infezioni, non solo quella da virus dell'immunodeficienza umana (*Human Immunodeficiency Virus*, HIV), ma anche quelle da virus di Epstein Barr (Epstein Barr virus o EBV), *Cytomegalovirus*, virus del Morbillo e *Mycobacterium tuberculosis*. Le alterazioni immunitarie secondarie a infezioni sono note sin dall'inizio del '900, quando venne descritta l'anergia all'intra-dermoreazione di Mantoux in corso di Morbillo. È anche noto che alcune condizioni a patogenesi immunologica (come la nefrosi) hanno un fugace miglioramento in corso di Morbillo. I meccanismi attraverso i quali gli agenti infettivi determinano un'immunosoppressione sono molteplici: inappropriata apoptosi dei linfociti, effetto citopatico diretto dei virus sui linfociti, effetto anergizzante, neutropenia. In corso di infezione da Morbillo, per esempio, si verifica un difetto di produzione di IL-12 e INF- γ che favorisce le infezioni batteriche secondarie. L'EBV riduce l'IL10 virale che attua un'azione frenante sui meccanismi immunitari. In alcuni casi, inoltre, l'agente infettivo può determinare un danno mucosale o cutaneo (quindi nelle prime fasi dell'immunità innata) che facilita la penetrazione di microrganismi. Le IDA secondarie a infezioni, a eccezione dell'HIV, sono generalmente transitorie e si risolvono rapidamente dopo la fase acuta.

Esistono numerose condizioni iatrogene che determinano IDA. L'interruzione della barriera cutanea e mucosa e lo stato infiammatorio che si sviluppano dopo un intervento chirurgico favoriscono lo sviluppo di infezioni. I pazienti splenectomizzati presentano un rischio incrementato di infezioni causate da germi capsulati (*Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* e *Neisseria meningitidis*) e necessitano pertanto di essere preventivamente vaccinati. L'eliminazione dei batteri capsulati dipende in larghissima misura dal *membrane attack complex* (le ultime 3 frazioni della cascata complementare) che crea dei pori nella parete batterica. La milza è la sede preponderante della produzione delle proteine del complemento. Pazienti timectomizzati, soprattutto a seguito di interventi cardiocirurgici oppure nel trattamento della *myasthenia gravis* o del timoma (spesso associato alla miastenia) presentano una maturazione extratimica dei linfociti T, con conseguenti livelli ridotti di CD4, CD8 e linfociti T naïve. In alcuni studi è stata descritta una neutrofilia, probabilmente dovuta a un'attivazione dell'immunità innata in risposta al difetto di quella adattativa. Nonostante la presenza di queste alterazioni immunologiche nei pazienti timectomizzati, non sono riportate significative ripercussioni cliniche. Sono state descritte condizioni di autoimmunità (biologicamente plausibili dato il ruolo del gene AIRE nel timo per lo sviluppo di tolleranza al *self*) o perdita della risposta ad antigeni polisaccaridici. Alcuni Autori, inoltre, suggeriscono che sia possibile un recupero delle alterazioni immunologiche a distanza di almeno 5 anni dall'intervento.

La principale causa iatrogena di IDA è rappresentata dai farmaci. Oltre agli immunosoppressori, alcuni farmaci possono determinare leucopenia per soppressione midollare, come avviene per alcuni antivirali, tra cui ganciclovir e valganciclovir, o antibiotici, in particolare trimetoprim-sulfametossazolo. I glucocorticoidi determinano il loro effetto immunosoppressivo riducendo la produzione di citochine, tra cui IL-1, IL-6 e TNF- α , alterando la chemiotassi e la fagocitosi neutrofila e interferendo con la produzione di linfociti T. Queste alterazioni facilitano lo svilupparsi di infezioni virali, batteriche e fungine. L'immunosoppressione da corticosteroidi non è però immediata e necessita di terapie prolungate e a dosi elevate (prednisone >2 mg/kg per almeno 2 settimane, o equivalenti). La terapia steroidea inalatoria generalmente non determina un'alterazione del sistema immunitario, anche se studi recenti hanno mostrato un rischio aumentato di infezioni batteriche e tubercolari nei pazienti adulti. Ciò vale anche per quanto riguarda l'immunizzazione con vaccini a virus vivo, che devono essere differiti solo quando il paziente ha assunto una dose di prednisone >2 mg/kg/die o equivalenti per periodi superiori alle due settimane. In tali circostanze la vaccinazione può essere effettuata due mesi dopo la sospensione della terapia. Non vi sono invece controindicazioni nelle seguenti circostanze:

- terapia steroidea di durata <2 settimane;
- dosi basso-moderate;
- terapia sostitutiva;
- terapia steroidea topica o inalatoria;
- somministrazione di vaccini inattivati o contenenti porzioni o prodotti microbici.

I farmaci citotossici, utilizzati prevalentemente nelle terapie anti-neoplastiche, hanno un potente effetto citopenizzante sia sui neutrofili sia sui linfociti. A causa della linfopenia e della neutropenia, assieme alle marcate alterazioni della barriera mucosa e cutanea che si possono associare, i pazienti sottoposti a terapia con farmaci citotossici presentano un rischio elevato di infezioni opportunistiche, in particolare da virus della famiglia erpetica e da funghi.

Negli ultimi anni è emersa anche la problematica dei pazienti sottoposti a terapie con farmaci biologici, che determinano alterazioni nel profilo citochinico. Questi pazienti presentano soprattutto un rischio elevato di sviluppare infezioni da micobatteri, per cui nessun paziente dovrebbe iniziare la terapia con farmaci biologici senza aver prima effettuato uno *screening* tubercolare con intradermoreazione di Mantoux e test *interferon-γ release assay*.

Virus dell'immunodeficienza umana

Il virus dell'immunodeficienza umana (*Human Immunodeficiency Virus* o HIV) rappresenta il principale agente infettivo responsabile di IDA. È stato identificato per la prima volta nel 1983 come agente responsabile di una nuova sindrome di immunodeficienza descritta alla fine degli anni '70 in alcune zone degli Stati Uniti, ad Haiti e in Africa.

Si stima che nel mondo vivano oltre 35 milioni di persone con infezione da HIV, di cui circa 2,5 milioni di bambini <15 anni. Attualmente circa il 70% dei soggetti affetti da HIV vive in Africa sub-sahariana, dove il 4,8% della popolazione adulta è HIV-infetta. Dal 2000 si è assistito a una progressiva riduzione dei nuovi casi sia negli adulti (-35%) sia nei bambini (-58%). In Europa si stima che attualmente nascano meno di 500 bambini con infezione da HIV all'anno. Parallelamente, negli ultimi cinque anni è aumentata dell'84% la percentuale di soggetti che ha accesso alle terapie antiretrovirali e, di conseguenza, si è assistito a una diminuzione del numero dei decessi, che restano comunque superiori al milione all'anno.

L'HIV è un virus a RNA della famiglia dei *Retroviridae*, genere *Lentivirus*. Ne sono stati identificati due differenti tipi, HIV-1 e HIV-2, che determinano quadri clinici sovrapponibili. Il virus è inoltre classificato in diversi gruppi e sottotipi (*clades*), la cui distribuzione varia a seconda dell'area geografica. L'HIV-1 sottotipo B è il maggiormente diffuso in Europa e Stati Uniti. L'HIV è un virus a forma sferica con due filamenti di RNA. I linfociti CD4+ sono il principale bersaglio del virus, ma vengono infettati anche monociti/macrofagi, cellule dendritiche, cellule di Langerhans, cellule della microglia e della placenta. In quanto appartenente alla famiglia dei *Retroviridae*, per realizzare il suo ciclo vitale il virus, appena internalizzato nella cellula, converte il suo RNA in DNA attraverso la trascrittasi inversa e si integra al genoma delle cellule bersaglio come provirus. All'interno della cellula, il virus può rimanere silente oppure iniziare un'attiva replicazione assieme alla duplicazione del DNA cellulare. I virioni maturi vengono successivamente rilasciati dalla cellula bersaglio per gemmazione, determinando la lisi cellulare.

Il principale marcatore dell'infezione da HIV è pertanto la riduzione del numero dei linfociti CD4+ circolanti. A questo difetto si associano alterazioni funzionali dell'interazione linfociti T e B, con un'anomala presentazione dell'antigene e disregolazione della risposta umorale agli antigeni, che si traduce in una ipergammaglobulinemia ma con anticorpi di modesta funzionalità. Il deficit combinato dell'immunità cellulo-mediata e umorale determina una maggiore suscettibilità alle infezioni virali, fungine e batteriche e una scarsa risposta alle vaccinazioni, oltre a determinare un'alterata risposta dei linfociti CD8+ alle cellule tumorali con conseguente rischio aumentato di sviluppare neoplasie, soprattutto a carico del sistema ematopoietico.

In età pediatrica la maggior parte delle infezioni avviene per via verticale, ovvero durante la gestazione, durante il passaggio dal canale del parto o attraverso l'allattamento. Altre possibili vie di trasmissione sono rappresentate dalla via ematica, attraverso trasfusione di emocomponenti contaminati (rischio azzerato nei Paesi industrializzati grazie ai programmi di controllo del sangue e derivati) o puntura volontaria o accidentale con aghi contaminati, e dalla via sessuale, attraverso il contatto tra liquidi biologici infetti (secrezioni vaginali, sperma, sangue) e le mucose.

Grazie alle strategie di prevenzione della trasmissione materno-fetale (*prevention of mother-to-child transmission*, PMCTC), il rischio d'infezione del neonato può essere ridotto dal 30-40% a meno del 2%. I programmi di PMTCT hanno pertanto permesso di ridurre drasticamente il tasso d'infezione nei nati da madre con HIV nei Paesi industrializzati, ma risultano tutt'ora difficilmente accessibili in alcune aree, specialmente dell'Africa sub-sahariana. Le strategie di prevenzione sono basate sui seguenti cardini:

- *screening* di tutte le donne in gravidanza;
- somministrazione di terapia antiretrovirale alla madre durante la gravidanza, il parto e l'eventuale allattamento;
- parto cesareo, se la carica virale risulta ancora dosabile;
- astensione assoluta dall'allattamento al seno nei Paesi a medio-alto reddito;
- profilassi post-esposizione nei neonati (zidovudina in monoterapia per 4-6 settimane, o terapia combinata nei pazienti ad alto rischio).

La diagnosi di infezione da HIV nei bambini di età superiore ai 18 mesi, così come negli adulti, viene effettuata attraverso test immunoenzimatici di "quarta generazione" che rilevano la presenza sia di antigeni sia di anticorpi di HIV-1 e HIV-2 (COMBO). Questi test presentano un'elevata sensibilità e specificità. La conferma diagnostica si ottiene attraverso la ricerca del genoma virale con metodica *polymerase chain reaction* (PCR). In considerazione del passaggio transplacentare di anticorpi materni, nel bambino al di sotto dei 18 mesi di vita la diagnosi deve essere, invece, effettuata con la ricerca del genoma virale con metodica PCR. Nel bambino con esposizione perinatale a HIV, la PCR deve essere effettuata a 14-21 giorni, 1-2 mesi e 4-6 mesi. L'esclusione dell'infezione perinatale nei bambini non allattati al seno è basata su 2 o

più PCR negative, di cui una dopo il primo mese di vita e una dopo il quarto, oppure con 2 test anticorpali negativi dopo i 6 mesi di vita. In via prudenziale, nei soggetti con 2 PCR negative, viene comunque documentata la negativizzazione degli anticorpi a 18 mesi.

Nell'infezione perinatale le manifestazioni cliniche sono generalmente più gravi e a più rapida insorgenza rispetto all'infezione acquisita in età adulta. I sintomi sono dovuti sia all'azione diretta del virus sul Sistema Nervoso Centrale, sul cuore e sui reni, sia alle infezioni opportunistiche che si verificano a seguito dell'immunodeficienza. In assenza di terapia antiretrovirale, un terzo dei bambini presenta un quadro clinico a rapida evoluzione che porta a morte nei primi due anni di vita. Nella restante parte, probabilmente infettata nell'ultime settimane di gravidanza o al momento del parto, i sintomi compaiono più tardivamente e la prognosi risulta migliore. I *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) hanno stilato una classificazione immunologica e una clinica che permettono di stadiare la malattia (Tabelle 2 e 3). Recentemente i CDC hanno pubblicato una revisione della classificazione dei casi di HIV, che però non è ancora stata introdotta nelle Linee Guida pediatriche.

*Tabella 2. Categorie immunologiche dell'infezione pediatrica da HIV
(Adattata da Centers for Disease Control and Prevention. Revised classification system for human immunodeficiency virus infection in children less than 13 years of age. MMWR 1994;43:1-10)*

CATEGORIA	ETÀ <12 MESI LINFOCITI CD4+		ETÀ 1-5 ANNI LINFOCITI CD4+		ETÀ 6-12 ANNI LINFOCITI CD4+	
	CELLULE/ mm ³	%	CELLULE/ mm ³	%	CELLULE/ mm ³	%
1. Nessuna evidenza di immunosoppressione	≥1.500	≥25	≥1.000	≥25	≥500	≥25
2. Immunosoppressione moderata	750-1.499	15-24	500-999	15-24	200-499	15-24
3. Immunosoppressione grave	<750	<15	<500	<15	<200	<15

Tabella 3. Categorie cliniche dell'infezione pediatrica da HIV
 (Adattata da Centers for Disease Control and Prevention. Revised classification system for human immunodeficiency virus infection in children less than 13 years of age. *MMW*, 1994;43:1-10)

CATEGORIA	SINTOMI
N: nessun segno clinico di infezione da HIV	Nessuno
A: sintomatologia lieve (2 o più condizioni cliniche elencate, nessuna di B e C)	<ul style="list-style-type: none"> • Linfadenopatia, Epatomegalia, Splenomegalia • Dermatite • Parotite • Infezioni respiratorie, otiti o sinusiti ricorrenti o persistenti
B: sintomatologia moderata	<ul style="list-style-type: none"> • Anemia, neutropenia, piastrinopenia • Una infezione batterica grave (meningite, polmonite, sepsi) • Candidosi orale persistente per oltre 2 mesi • Cardiomiopatia • Nefropatia • Epatite • Diarrea cronica o ricorrente • Febbre persistente (>1 mese) • Infezione da CMV, insorta nel 1° mese di vita • Stomatite ricorrente da HSV (>2 episodi/anno) • Bronchite, polmonite, esofagite da HSV • <i>Herpes zoster</i> (>1 episodio o >1 dermatomero) • Polmonite interstiziale linfoide • Toxoplasmosi, insorta nel 1° anno di vita • Varicella disseminata • Leiomiomasarcoma
C: sintomatologia grave (AIDS conclamato)	<ul style="list-style-type: none"> • Infezioni batteriche (≥ 2 in 2 anni): meningite, sepsi, polmonite, osteomielite, Candidiasi esofagea o polmonare • Coccidioidomicosi disseminata • Criptococchi extrapolmonare • Criptosporidiosi o isosporiasi con diarrea persistente >1 mese • CMV insorto oltre il 1° mese di vita (sede diversa da fegato, milza, linfonodi) • Encefalopatia • HSV con ulcere mucocutanee >1 mese o bronchite, polmonite, esofagite • Histoplasmosi disseminata • Sarcoma di Kaposi • Linfoma • Tubercolosi disseminata o extrapolmonare • Infezione disseminata da <i>Mycobacterium avium</i>, <i>kansasii</i> o altra specie • Polmonite da <i>Pneumocystis jirovecii</i> • Sepsi ricorrenti da Salmonella • Toxoplasmosi cerebrale esordita oltre il 1° mese di vita • <i>Wasting syndrome</i> • Leucoencefalopatia multifocale progressiva

La storia naturale della malattia è rapidamente cambiata con l'avvento della *Highly Active Anti-Retroviral Therapy* (HAART) ovvero combinazioni terapeutiche di più farmaci appartenenti a diverse categorie farmacologiche. Le più recenti indicazioni prevedono che la terapia venga iniziata in tutti i bambini indipendentemente dallo stato immunologico e dalle manifestazioni cliniche. La terapia prevede generalmente due farmaci appartenenti alla categoria degli inibitori nucleosidici della trascrittasi inversa (cosiddetti *backbone*) associati a un inibitore delle proteasi o a un inibitore della trascrittasi inversa non nucleosidico. Nei bambini di età superiore ai 12 anni, i regimi contenenti un inibitore delle integrasi rappresentano una valida alternativa. Per i pazienti più grandi sono disponibili coformulazioni a dose fissa di più principi attivi che permettono di ridurre il numero delle compresse da assumere e, di conseguenza, di migliorare la *compliance*. L'obiettivo della terapia è raggiungere la soppressione virale e ottenere un mantenimento o ripristino di valori di linfociti CD4+ nella norma. In associazione alla terapia antiretrovirale, importanti caposaldi della terapia dell'HIV sono rappresentati dalla profilassi delle infezioni opportunistiche, soprattutto da *Pneumocystis jirovecii*, nei pazienti con bassi valori di linfociti CD4+, dalla rapida terapia delle infezioni e da un adeguato programma di vaccinazioni. L'approccio al bambino con infezione da HIV deve essere multidisciplinare e prevedere anche la presa in carico dal punto di vista psicologico, soprattutto al momento della comunicazione della diagnosi e dell'età adolescenziale, quando risultano particolarmente complessi sia l'approccio alla sfera sessuale sia il mantenimento di una buona *compliance* alla terapia.

Bibliografia essenziale

- AIDSinfo. Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in Pediatric HIV Infection. Last updated: March 1, 2016. <https://aidsinfo.nih.gov/guidelines/html/2/pediatric-arv-guidelines/55/diagnosis-of-hiv-infection-in-infants-and-children>
- AIDSinfo. Recommendations for Use of Antiretroviral Drugs in Pregnant HIV-1-Infected Women for Maternal Health and Interventions to Reduce Perinatal HIV Transmission in the United States. Last updated: April 29, 2016. <https://aidsinfo.nih.gov/guidelines/html/3/perinatal-guidelines/0#>
- Bamford A, Turkova A, Lyall H et al; (PENTA Steering Committee). Paediatric European Network for Treatment of AIDS (PENTA) guidelines for treatment of paediatric HIV-1 infection 2015: optimizing health in preparation for adult life. *HIV Med.* 2015 Feb 3.
- Chinen J, Shearer WT. Secondary immunodeficiencies, including HIV infection. *J Allergy Clin Immunol.* 2010;125:S195-203.
- de Martino M, Ballotti S. The child with recurrent respiratory infections: normal or not? *Pediatr Allergy Immunol* 2007;18:13-18.
- de Martino M, Galli L, Chiappini E. Perinatal human immunodeficiency virus type-1 in the 21st century: new challenges in treatment and health care organization. *Pediatr Infect Dis J.* 2015;34:S1-2.
- Dong YH, Chang CH, Lin Wu FL et al. Use of inhaled corticosteroids in patients with COPD and the risk of TB and influenza: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Chest.* 2014;145:1286-97.
- Galli L, Puliti D, Chiappini E et al; Italian Register for HIV Infection in Children. Is the interruption of antiretroviral treatment during pregnancy an additional major risk factor for mother-to-child transmission of HIV type 1? *Clin Infect Dis.* 2009;48:1310-7.
- Montagnani C, Chiappini E, Bonsignori F et al. Long-term effect of highly active antiretroviral therapy on immunologic features in children. *Pediatr Infect Dis J.* 2015;34:S3-6.
- Ronacher K, Joosten SA, van Crevel R et al. Acquired immunodeficiencies and tuberculosis: focus on HIV/AIDS and diabetes mellitus. *Immunol Rev.* 2015;264:121-37.
- Roosen J, Oosterlinck W, Meyns B. Routine thymectomy in congenital cardiac surgery changes adaptive immunity without clinical relevance. *Interact Cardiovasc Thorac Surg.* 2015;20:101-6.
- UNAIDS. AIDS by the numbers 2015. http://www.unaids.org/en/resources/documents/2015/AIDS_by_the_numbers_2015
- Venturini E, Turkova A, Chiappini E et al. Tuberculosis and HIV co-infection in children. *BMC Infect Dis.* 2014;14:S5.

Quali sono i dubbi gestionali di un bambino con immunodeficienza? A casa, a scuola, in viaggio

A. Martelli, S. Barberi, R.M. Dellepiane, L. Terracciano, D. Di Mauro

Sicuramente non tutte le immunodeficienze sono uguali e non impegnano allo stesso modo genitori e familiari nella gestione della vita quotidiana. Il nostro obiettivo è curare la malattia e far anche sì che il bambino con immunodeficienza conduca una vita serena e normale, il più possibile senza infezioni: per questo possono essere utili alcuni consigli, spesso solo di buon senso e di conseguenza proponibili facilmente a tutti i componenti della famiglia.

A casa

Igiene personale. Oltre alla pulizia, è importante ricordare che la cute integra è la prima barriera per evitare infezioni, soprattutto da *Stafilococcus aureus*, talvolta anche meticillino-resistente. Nei bambini con associato eczema (deficit di IgA con allergia, sindromi con immunodeficienza quali Sindrome da Iper-IgE e sindrome di Wiskott Aldrich) è importante mantenere la cute idratata seguendo, dopo accurata pulizia, le indicazioni del dermatologo o del curante.

Nei bambini, in particolare con Malattia Granulomatosa Cronica e nei deficit dei fagociti anche solo numerici, è molto importante lavare profondamente ogni taglio o abrasione con acqua e sapone, proseguire con un antisettico e, infine, risciacquare con perossido di idrogeno. Qualsiasi arrossamento o irritazione intorno all'area interessata o la presenza di pus o febbre devono essere comunicati al proprio medico al suo primo manifestarsi.

Lavare i denti. Un'accurata igiene orale è importante per tutti. In particolare, nei bambini con immunodeficienza è bene evitare la formazione di carie dentaria, parodontopatie e gengiviti, che possono essere il punto di partenza per la diffusione di infezioni batteriche sistemiche e di endocarditi. I bambini con deficit di produzione di anticorpi sono in particolare suscettibili a infezioni del tratto gastrointestinale e respiratorio e ad alto rischio di carie dentaria, perdita dei denti e malattie gengivali. Lo *Streptococcus mutans*, in particolare, sembra essere il principale responsabile di carie dentaria, che può facilitare la perdita dei denti e, di conseguenza, un alterato stato di nutrizione. È fortemente raccomandato: effettuare visite di controllo dal dentista ogni 6 mesi; sciacquare la bocca con acqua sempre dopo aver bevuto o mangiato bevande o cibi dolci (meglio se entro 10 minuti, tempo considerato necessario per abbassare il pH orale a un punto critico che faciliterebbe l'attacco batterico) e masticare chewing gum con xylitolo (che previene l'aderenza batterica alla superficie dei denti e ha effetto inibitorio diretto sullo *Streptococcus mutans*; inoltre, la masticazione stimola diret-

tamente la produzione di saliva, che aiuta nella pulizia dei denti riducendo il tempo di esposizione alle sostanze cariogene nella cavità orale). È inoltre ormai noto a tutti quanto sia utile considerare nel proprio stile di vita la possibilità di ridurre l'*intake* di cibi e bevande dolci, soprattutto nell'intervallo tra i pasti principali.

Nei pazienti con Malattia Granulomatosa Cronica (ma anche in tutti quelli con deficit dell'immunità innata e con rischio di infezioni invasive da *Aspergillus*) è consigliato lavare i denti due volte al giorno con perossido di idrogeno e pasta dentifricia al bicarbonato; risulta inoltre utile usare collutorio per ridurre la possibilità di gengiviti. Infine, è importante effettuare sempre le profilassi delle endocarditi, anche in assenza di cardiopatia, assumendo antibiotici prima e dopo qualsiasi trattamento ortodontico.

Lavare le mani. L'igiene delle mani è senza dubbio la misura preventiva più importante, semplice ed efficace per prevenire le infezioni in ospedale, ma è importantissimo avere consapevolezza della sua importanza anche nella prevenzione delle infezioni al proprio domicilio. È fondamentale che questa consapevolezza riguardi non solo il piccolo paziente con immunodeficienza, ma tutto il nucleo familiare. Avere un comportamento corretto può infatti contribuire alla riduzione di molte malattie diffusibili per via oro-fecale e per contatto, che possono avere un decorso più grave nei bambini con immunodeficienza primitiva; in questo modo è possibile far risparmiare loro un ricovero oppure una nuova infezione anche se trattabile a domicilio.

Quello che si esegue normalmente con acqua e sapone è chiamato lavaggio sociale o igienico delle mani e ha lo scopo di eliminare lo sporco visibile e rimuovere la flora microbica transitoria. Questa pratica è raccomandata per proteggere dalla trasmissione di infezioni da contatto per via aerea e attraverso goccioline (per esempio, le più comuni sono: influenza, raffreddore, gastroenterite virale e batterica, bronchiolite in particolare da Virus respiratorio sinciziale). Il lavaggio si esegue prima di manipolare oggetti, giochi, farmaci o di preparare o servire alimenti. È poi necessario lavare le mani con acqua e sapone quando sono visibilmente sporche o contaminate con materiale proteico, con sangue o altri liquidi biologici e dopo l'uso dei servizi igienici. È bene ricordare di lavare sempre le mani prima di un pasto. Il lavaggio sociale deve durare dai 40 ai 60 secondi perché sia efficace.

È importante che le unghie siano tenute corte e arrotondate, poiché sotto le unghie si annidano e proliferano miceti e batteri. Per lo stesso motivo è meglio evitare unghie artificiali o estensioni.

Non mettere le mani in bocca. Non è solo una buona regola del *bon ton* ma, insieme al lavaggio delle mani, è una valida modalità di prevenzione delle infezioni trasmissibili prevalentemente per via oro-fecale, soprattutto enterobatteri, parassiti e protozoi.

Attenzione ai contatti con recenti vaccinazioni con alcuni virus vivi attenuati. Le vaccinazioni dei familiari/conviventi di un bambino con immunodeficienza sono da raccomandare perché riducono il rischio di malattia al piccolo paziente. È però da tenere ben presente che il paziente con immunodeficienza non deve maneggiare i pannolini sporchi di un familiare che ha effettuato la vaccinazione anti-Rotavirus (il vaccino contiene



il virus vivo attenuato) per almeno 4 settimane dopo la vaccinazione, per il pericolo di contrarre direttamente l'infezione. Analogamente, il paziente con immunodeficienza deve evitare contatti diretti con familiari che dopo vaccinazione antivaricella (virus vivo attenuato) presentino lesioni cutanee, fino a che non siano completamente guarite. Si ricorda di evitare anche il contatto diretto con familiari/conviventi che abbiano lesioni cutanee da *Herpes simplex* in atto. L'infezione erpetica, che si può contrarre per contatto diretto, soprattutto facilitata da lesioni cutanee, può essere tanto più grave quanto più importante è il difetto immunologico (soprattutto a carico della componente T cellulare).

Ambiente domestico. Per i pazienti con deficit dei fagociti e Malattia Granulomatosa Cronica si raccomanda di non tenere piante in casa (rischio di inalazione di muffe; che spesso crescono nei terreni); se si posseggono fiori freschi è consigliabile aggiungere un cucchiaino di candeggina per ridurre la formazione di muffa o alghe. Per tutti è bene evitare di toccare la terra delle piante con le mani a causa dell'elevato rischio di contrarre un'infestazione intestinale da parassiti (ossiuri, *Enterobius vermicularis*, tenia, *Giardia lamblia*) anche se più a rischio sono i pazienti con agammaglobulinemia, CVID, SCID, deficit di IgA. Inoltre, nell'ambiente domestico è indicato utilizzare un vaporizzatore, svuotandolo e lavandolo quotidianamente con candeggina per evitare la formazione di muffe.

Infine, non si devono sollevare o spostare tappeti o mattonelle in presenza del paziente ed è necessario pulire a fondo gli ambienti prima di abitarli o dormirci.

Animali domestici. A meno che non ci siano problemi specifici di allergia, gli animali domestici sono tollerati ma è importante non utilizzare la segatura per la lettiera; assicurarsi che essi siano in regola con le vaccinazioni dovute; effettuare controlli frequenti dal veterinario per prevenire e curare precocemente le infestazioni da *Toxoplasma gondii*, *Bartonella*, *Leishmania*, *Toxocara canis*; mantenere pulita l'acqua nelle ciotole e la lettiera (precauzione consigliata per evitare inalazione di muffe, soprattutto nella Malattia Granulomatosa Cronica). Ricordare che i pappagalli possono veicolare la *Chlamydia psittaci*. I pazienti con deficit immunitari caratterizzati da difetto di cooperazione tra linfociti B e T, tra cui anche la sindrome da iper-IgM, sono maggiormente a rischio di infezioni da opportunisti quali *Pneumocystis jiroveci*, *Cryptosporidium species* (infezione cronica che provoca diarrea persistente, arresto della crescita e calo ponderale, colangiopatia), *Toxoplasma gondii* e *Cryptococcus neoformans* (interessamento cerebrale diffuso) e *Mycobacteria species*. In questi pazienti è bene consigliare di ridurre al minimo il contatto con cuccioli (gatti e cani) e di evitare il contatto con animali da fattoria (soprattutto agnelli e vitelli).

Attenzione all'acqua. Nei pazienti con deficit combinati e nella sindrome da iper-IgM vi è un alto rischio di infezioni da *Cryptosporidium species*. Per ridurre il più possibile le infezioni da *Cryptosporidium* è bene bere solo acqua in bottiglia oppure acqua bollita o filtrata con filtri professionali con pori di grandezza $<1 \mu\text{m}$; inoltre si consiglia di evitare nella prima infanzia la piscina e il nuoto nei laghi (il nuoto è permesso in piscina per età superiore a 5 anni). Infine è bene indagare la causa di tutti gli episodi di diarrea (specificarne la ricerca in laboratorio).

Evitare di mangiare prodotti non sicuri. A meno che non vi siano problemi di allergie o intolleranze alimentari, si può mangiare di tutto. Il buon senso ci dice di non assumere prodotti artigianali non sicuri (per esempio il gelato, il pesce crudo e il pesce di origine non sicura, per rischio di tossinfezioni e parassitosi - anisakis), la carne cruda e il salame artigianale (rischio di parassitosi intestinale e toxoplasmosi), il latte non pastorizzato (rischio di tubercolosi e brucellosi), i formaggi prodotti da latte non pastorizzato (brucellosi, echinococcosi) e i prodotti avanzati da più giorni anche se conservati in frigorifero (pericolo di muffe per Malattia Granulomatosa Cronica).

Non fumare. Il tabacco contiene *Aspergillus*; è inoltre ben noto che il fumo passivo è un fattore favorente le infezioni respiratorie ricorrenti, che sono notevolmente aumentate tra i bambini che vivono in famiglie in cui almeno un genitore fuma. Eseguire con costanza e regolarità, se prescritti, lavaggi nasali e fisioterapia respiratoria secondo le indicazioni personalizzate del medico di riferimento e del fisioterapista. Informare immediatamente il proprio medico in ogni caso di febbre.

Attività fisica

L'Organizzazione Mondiale della Sanità sottolinea come un adeguato e regolare esercizio fisico e sane abitudini alimentari siano fondamentali per mantenersi in buona salute. Sport e attività fisica sono i presupposti fondamentali per condurre una vita in benessere. L'attività fisica induce infatti una serie di modificazioni benefiche per l'organismo e per la sfera psicoemotiva favorendo anche la socializzazione. Essa ha anche un effetto positivo sulla ventilazione polmonare e sul rapporto ventilazione/perfusione.

Nelle immunodeficienze primitive, soprattutto a carico dell'immunità umorale, la terapia sostitutiva con immunoglobuline ha portato a grandi progressi nella cura, con drastica riduzione delle gravi infezioni delle basse vie respiratorie, che purtroppo non impediscono l'instaurarsi di broncopneumopatia cronica per l'impossibilità di sostituire le IgA e le IgM a livello delle mucose. Da qui nasce l'importanza della fisioterapia respiratoria quotidiana e dei lavaggi nasali proposti a tutti i pazienti con immunodeficienza umorale dal momento della diagnosi, che sono da effettuare costantemente anche in benessere.

I pazienti con stili di vita attivi hanno una progressione più lenta della malattia respiratoria. L'attività sportiva è perciò da consigliare sicuramente anche nei pazienti con immunodeficienza primitiva. In diversi studi è stato riscontrato un miglioramento della situazione respiratoria in pazienti che praticano regolarmente un'attività sportiva e come questo vantaggio venga perso dopo la sospensione dell'attività fisica. In pazienti con patologie ostruttive l'attività fisica può aumentare l'espettorazione e modificare alcuni parametri di funzionalità respiratoria.

La scelta dello sport dipende da diversi fattori, personali e ambientali, ma anche dalla situazione clinica del paziente; per tali motivi andrebbe discussa con i medici e i terapeuti. Chi ha deficit immunitari può praticare la maggior parte degli sport, comunque il criterio di scelta deve rispettare l'inclinazione personale. Quello che conta è che il paziente possa impegnarsi nel suo sport preferito. Le limitazioni all'attività sportiva sono legate alla gravità della patologia in quel momento e fanno parte della valutazione eseguita dal terapeuta e dal medico durante le visite mediche.

Precauzioni all'aperto

Evitare granai, grotte e altre aree polverose o umide (pericolo *Aspergillus*).

Per evitare l'inalazione di una ingente quantità di funghi, si consiglia di non lavorare in ambienti con muffa, fieno, schegge di legno, erba tosata e altri scarti di erba o legna che appaiano marci o con funghi.

Non utilizzare campi da gioco con trucioli di legno ma con superficie liscia o ghiaia.

Se si pratica del giardinaggio cercare di indossare una mascherina per filtrare l'aria (pericolo *Aspergillus*).

Proteggere le mani se si deve toccare direttamente la terra per evitare di contrarre infestazione intestinale da parassiti (ossiuri, *Enterobius vermicularis*, Tenia, *Giardia lamblia*)

anche se più a rischio sono i pazienti con agammaglobulinemia, CVID, SCID e deficit di IgA.

L'attenzione all'acqua deve essere rivolta anche durante il gioco all'aperto, come in giardino e nel cortile di casa. Spesso i bambini giocano con l'acqua delle fontanelle e, se non controllati da un adulto, anche con l'acqua delle pozzanghere. Preoccupazione dei genitori e degli educatori deve essere quella di assicurare ai bambini un luogo sano e sicuro per il gioco.

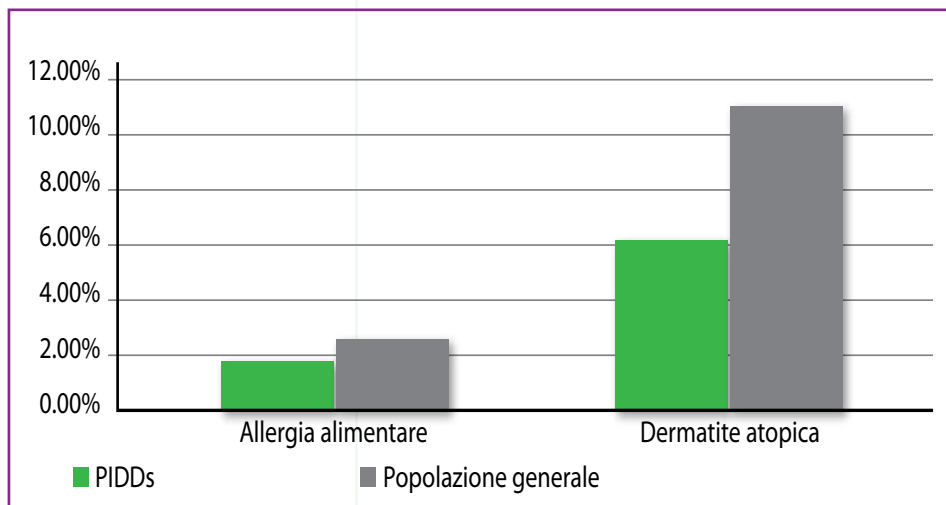
Quando il bambino con immunodeficienza diventa allergico

La prevalenza delle malattie allergiche pediatriche è aumentata nelle ultime decadi e pertanto risulta più probabile la possibilità che due patologie differenti, quali l'immunodeficienza e l'allergia, possano coesistere. In realtà entrambe hanno una radice comune nel sistema immunitario, anche se la prima è determinata da un deficit quantitativo o funzionale del sistema immunitario e la seconda da una disregolazione dello stesso.

In alcune occasioni le patologie possono concomitare, per esempio nel deficit di IgA e in alcuni casi di sindromi da Iper-IgE.

Sono pochi i dati epidemiologici sulla presenza contemporanea di immunodeficienza e allergia. Nello studio dell'*US Immunodeficiency Network (USIDNET)* è stata valutata la prevalenza di allergie alimentari e di dermatite atopica nel bambino con immunodeficienza, che risultano però meno rappresentate nelle immunodeficienze primitive rispetto alla popolazione pediatrica immunocompetente.

Figura 1. Prevalenza di allergia alimentare e dermatite atopica nei bambini con immunodeficienza primitiva



PIDDs: bambini con immunodeficienza primitiva

Risulta davvero difficile fornire un'interpretazione a questa prima osservazione, anche perché occorre che il dato possa essere confermato in altre casistiche prima di poter tracciare un'ipotesi che spieghi tali relazioni. Il dato fa pensare che l'immunodeficienza possa essere un fattore in parte protettivo per l'allergia alimentare e la dermatite atopica. Forse la spiegazione più semplice è che ogni reazione allergica sia l'espressione di una particolare reattività del sistema immunitario, che è sicuramente meno rappresentata in una condizione di immunodeficit.

È indubbio che le profonde interconnessioni del sistema immunitario sono note solo in parte, come dimostrano alcune osservazioni della letteratura che hanno messo in correlazione l'allergia alimentare con l'immunodeficienza.

Le domande che il pediatra deve porsi di fronte a un bambino con immunodeficienza e successiva comparsa di allergia sono perlopiù rivolte a due aspetti particolari: l'uso dello steroide inalatorio od orale, in relazione alla possibile ulteriore immunodepressione conseguente, e l'utilizzo dell'immunoterapia specifica (ITS) per inalanti nel bambino con rinite e/o asma bronchiale allergica.

Uso degli steroidi nel bambino con immunodeficienza

È ben noto che il trattamento a lungo termine con steroidi sistemici eserciti effetti immunosoppressivi sul sistema immunitario cellulare e aumenti la suscettibilità a tutti i tipi di infezioni intracellulari. I corticosteroidi inalatori sono il trattamento cardine per la rinite e l'asma nel lungo periodo e sono generalmente accettati come sicuri, con minimo assorbimento sistemico. Anche se questi farmaci sono di solito utilizzati per lunghi periodi e, talvolta, in dosi elevate, vi è scarsa evidenza del loro impatto sull'immunità cellulo-mediata, l'immunità innata e anti-virale. Mentre i benefici immediati del trattamento con corticosteroidi derivano da modificazioni vascolari di breve durata e da una limitata immunosoppressione, il trattamento di lunga durata con glucocorticoidi (GC) o con dosi elevate ha alcuni effetti collaterali che possono coinvolgere numerosi apparati.

Nei meccanismi fisiologici del nostro organismo i GC occupano un posto di rilievo, in quanto si dimostrano essenziali per controbilanciare gli effetti pro-infiammatori di citochine, chemochine e altri, formati in risposta a un evento infiammatorio o di altra natura. La loro azione regolatrice viene quindi a essere analoga a quella di molti altri sistemi, attivanti e inibenti, presenti nel nostro organismo.

Ma questo effetto molteplici dei GC può determinare, oltre agli effetti favorevoli, anche degli effetti contrari, come l'immunosoppressione, l'inibizione della guarigione delle ferite e molte altre alterazioni sistemiche. Le Linee Guida GINA e ARIA non differenziano, rispettivamente nel trattamento dell'asma e della rinite allergica, dosi diverse di steroidi nel caso in cui il bambino sia portatore di immunodeficienza o meno.

Ciononostante, le Linee Guida vanno sempre adattate, con buon senso clinico ed equilibrio, al singolo bambino, cercando di definire sempre la terapia meglio tolle-

rata e più efficace. Pertanto, specie nei bambini che si ammalano spesso, si potrà valutare la possibilità di eseguire una terapia di fondo con antileucotrieni, riducendo, nello stesso tempo, la dose di steroide inalatorio per avere comunque una terapia combinata ma volta a ridurre l'effetto immunosoppressore dello steroide ad alto dosaggio. Anche nei casi di bambini con immunodeficienza e concomitante rinite allergica si potrà ricorrere a dosi più basse di steroide nasale, associando altri farmaci attivi sulla rinite. Si potrà anche prendere in considerazione la possibilità di iniziare un percorso di immunoterapia specifica (da eseguire solo in casi molto selezionati e presso Centri di terzo livello con esperienza in casi simili) che è in gran parte capace di ridurre l'utilizzo di steroidi inalatori. Per il futuro, senza ricorrere agli steroidi, sono allo studio altri nuovi farmaci in grado di correggere le malattie allergiche, ma la maggior parte di queste molecole sono ancora disponibili solo in fase sperimentale e in Centri autorizzati. È auspicabile, come già descritto più di dieci anni fa, che si arrivi alla preparazione di GC modificati provvisti di effetti favorevoli, senza presentare effetti collaterali. Per ora però molecole con queste caratteristiche non sono ancora state approntate. Inoltre, i meccanismi multifattoriali della resistenza ai GC nell'asma rimangono poco chiari. Inutile dare steroidi inalatori a bambini con asma che non rispondono a tali trattamenti, a maggior ragione se sono affetti anche da immunodeficienza. Escludendo la non compliance al trattamento, la farmacocinetica anomala e rari difetti genetici dei recettori, la maggior parte della resistenza ai GC nell'asma è attribuita a un difetto secondario di funzione dei recettori per GC. Attraverso la proteomica stanno avanzando studi e ipotesi dai grandi orizzonti. Infatti, la proteomica consiste nell'identificazione sistematica di proteine e nella loro caratterizzazione rispetto a struttura, funzione, attività, quantità e interazioni molecolari e pertanto esiste la possibilità di identificare biomarker di GC-resistenza attraverso studi di proteomica funzionale. Questo potrebbe facilitare l'identificazione dei fenotipi allergici *responder* ai GC.

La scelta dell'immunoterapia specifica nel bambino allergico con immunodeficienza

L'immunoterapia allergene specifica (ITS) è definita come la somministrazione di dosi scalari progressivamente crescenti di un estratto allergenico al soggetto allergico, con lo scopo di ridurre la sintomatologia provocata dall'esposizione naturale all'allergene stesso. L'ITS fu introdotta per la prima volta nella pratica clinica per il trattamento della pollinosi da Noon e Freeman nel 1911. L'efficacia clinica dell'ITS deriva attualmente dalla possibilità di ottenere dei prodotti allergenici altamente standardizzati: la qualità del prodotto utilizzato è importante per ottenere dei risultati clinicamente validi. L'immunoterapia è una terapia eziologica che può modificare la storia naturale delle malattie allergiche a differenza della terapia farmacologica tradizionale che agisce solo sui sintomi e non sulla causa scatenata gli stessi. L'indica-

zione all'ITS è costituita dalle sindromi allergiche respiratorie (asma, rinite, congiuntivite) provocate da reazioni IgE-mediate verso allergeni respiratori.

Nei pazienti con immunodeficienze generalmente l'ITS è controindicata anche se, nel recente *position paper* dell'*European Academy of Allergy and Clinical Immunology*, vengono definite controindicazioni relative e non assolute. Ogni immunodeficienza, infatti, ha un impatto e un meccanismo patologico diverso. Per esempio, il deficit di IgA (la più comune immunodeficienza primaria) è spesso non diagnosticato e, in molti casi, probabilmente l'ITS è stata prescritta in pazienti con tale immunodeficienza non indagata.

Per quanto riguarda le immunodeficienze acquisite, un recente e innovativo studio ha dimostrato la sicurezza e l'efficacia dell'ITS sublinguale con le tablet di mix 5 graminacee in soggetti adulti affetti da HIV e in trattamento con terapia antiretrovirale.

Numerose sono le *consensus* che definiscono le categorie di pazienti nei quali attualmente l'ITS è controindicata, ma spesso il motivo di questa controindicazione non è fondato su evidenze scientifiche ma piuttosto su preconcetti e misure precauzionali. Questo è vero soprattutto nella popolazione pediatrica.



KEYPOINTS

- Nel bambino con immunodeficienza l'igiene personale è importante per ridurre la possibilità che si instaurino infezioni e che possano diffondersi anche a livello sistemico.
- L'attività sportiva è consigliata nei pazienti con immunodeficienza primitiva, le limitazioni in tal senso sono legate alla gravità del quadro clinico.
- Le Linee Guida GINA e ARIA non differenziano, rispettivamente nel trattamento a lungo termine dell'asma e della rinite allergica, dosi diverse di steroidi nel caso in cui il bambino sia portatore di immunodeficienza o meno.
- Nei pazienti con immunodeficienze generalmente l'ITS è controindicata anche se, nel recente *position paper* dell'*European Academy of Allergy and Clinical Immunology*, vengono definite controindicazioni relative e non assolute.

Bibliografia essenziale

- Yousefi H, Aghamohammadi A, Rezaei N. Clinical recommendations for oral management of patients with primary antibody deficiencies. *Expert Rev Clin Immunol* 2016; 12(4): 359-60.
- Davies EG, Thrasher AJ. Update on the hyper immunoglobulin M syndromes. *Br J Haematol* 2010; 149(2): 167-80.
- Shearer WT et al. Recommendations for live viral and bacterial vaccines in immunodeficient patients and their close contacts. *J Allergy Clin Immunol* 2014; 133(4): 961-6.
- Brivio A et al. La Fisioterapia Respiratoria nelle Immunodeficienze primitive. Quaderni sulle Immunodeficienze primitive N-8. Associazione Immunodeficienze Primitive - AIP Onlus. Maggio 2011.
- Tuano KS et al. Food allergy in patients with primary immunodeficiency diseases: prevalence within the US Immunodeficiency Network (USIDNET). *J Allergy Clin Immunol* 2015; 135(1): 273-5.
- Bahceciler NN. Does inhaled corticosteroid treatment result in a secondary immune deficiency predisposing to recurrent infections? *Antiinflamm Antiallergy Agents Med Chem* 2012; 11(3): 217-20.
- Pazdrak K et al. Functional proteomics for the characterization of impaired cellular responses to glucocorticoids in asthma. *Adv Exp Med Biol* 2014; 795: 255-70.
- WHO Position paper. Allergen immunotherapy: Therapeutic vaccines for allergic diseases. *Allergy* 1998; 53: S1-S41.
- Incorvaia C et al. Focusing the mechanism of action to dissect the different treatments of respiratory allergy. *Expert Rev Clin Immunol* 2015; 11(9): 1005-13.
- Pitsios C et al. Clinical contraindications to allergen immunotherapy: an EAACI position paper. *Allergy* 2015; 70(8): 897-909.



COME SEGUIRE IL BAMBINO TRAPIANTATO

E. Chiappini, S. Frenos

La migliore conoscenza della patogenesi e della fisiopatologia molecolare di molte Immunodeficienze Primitive (IDP) grazie ai continui progressi in ambito genetico molecolare, la disponibilità di nuove molecole nella terapia medica, la possibilità di nuove modalità di somministrazione di terapie ormai consolidate come la terapia sostitutiva con immunoglobuline, i risultati sempre più incoraggianti ottenuti con il trapianto di cellule staminali emopoietiche (TCSE), la possibilità di utilizzare la terapia genica in alcune condizioni e la condivisione di percorsi diagnostico-terapeutici a livello nazionale ed internazionale hanno portato ad un “drammatico” miglioramento nell’aspettativa e nella qualità di vita per i pazienti, bambini e adulti con IDP. Molte IDP possono guarire e tutte possono essere curate, divenendo malattie croniche. Questo significa che è necessario riuscire a realizzare per ciascun paziente un percorso di continuità assistenziale, non solo nel passaggio dall’età pediatrica all’età adulta, ma anche nella collaborazione sempre più attiva e proficua tra ospedale e territorio. Come ben noto, nella gestione dei pazienti con IDP fondamentale è la pronta terapia e prevenzione dei problemi infettivi, ma anche la precoce diagnosi ed il tempestivo trattamento delle complicanze a lungo termine, in particolare la broncopneumopatia cronica e la sinusopatia cronica, le complicanze autoimmuni e le patologie neoplastiche.

In questo ambito, può essere rilevante per quanto riguarda la pratica clinica considerare la possibilità di avere tra i nostri bambini assistiti bambini con IDP che sono stati sottoposti a TCSE, o bambini con IDP che eseguono terapia sostitutiva con immunoglobuline.

Il bambino trapiantato

Come appena sottolineato, grazie al miglioramento diagnostico-terapeutico ed assistenziale la sopravvivenza dei pazienti sottoposti a trapianto di cellule staminali emopoietiche (TCSE), effettuato per la cura di patologie sia oncologiche che non oncologiche, sta progressivamente aumentando e visto che il percorso terapeutico non si esaurisce nel solo ricovero ospedaliero, il pediatra o il medico di famiglia diventano parte integrante del trattamento del paziente stesso. Le alte dosi di chemioterapia o radioterapia utilizzate nel regime di condizionamento pre-TCSE possono essere responsabili di molte complicanze, precoci e tardive, che possono mettere a rischio sia la riuscita del trapianto sia il benessere del paziente. È pertanto fondamentale che si

instauri e si mantenga uno stretto rapporto di collaborazione tra il Centro ospedaliero di riferimento e il medico che opera sul territorio, con aggiornamenti reciproci e integrazione delle cure. In questo capitolo prenderemo in considerazione in maniera schematica le principali complicanze precoci e tardive post-TCSE, in modo da adeguare la gestione in ambito territoriale alle esigenze del paziente sottoposto a TCSE.

1. Quali sono le principali complicanze del paziente sottoposto a TCSE?

Le complicanze “precoci” dopo un TCSE sono rappresentate essenzialmente dal mancato attecchimento del trapianto e dalla malattia del trapianto contro l’ospite - *graft versus host disease* (GvHD).

La ricostituzione dello stato immunitario dopo il trapianto dipende dal tipo di donatore, dalla fonte di cellule progenitrici (midollo osseo, sangue periferico o sangue cordonale), dal regime di condizionamento, dal grado di istocompatibilità tra il donatore e il ricevente, e dalla presenza e il grado di GvHD.

Gli interventi relativi alle complicanze acute sono tipicamente affrontati e risolti, ove possibile, nel Centro trapiantologico e difficilmente devono essere affrontati al di fuori della realtà ospedaliera.

Fra le possibili complicanze “non precoci”, la più frequente e temibile è certamente quella legata alle infezioni. Per lo scopo che si prefigge di questa guida, citeremo senza entrare nei dettagli, le altre complicanze che sono la malattia Venoso-Occlusiva del fegato (VOD), la Cistite Emorragica e la Microangiopatia Trombotica.

Malattia da trapianto contro l’ospite (GvHD)

Tradizionalmente la GvHD viene clinicamente suddivisa in due forme distinte, la forma **acuta** (aGvHD) e la forma **cronica** (cGvHD).

La **aGvHD** è mediata prevalentemente da cellule T, di derivazione dalle cellule emopoietiche del donatore, e comporta una tempesta citochinica responsabile del danno d’organo. L’aGvHD tipicamente interessa cute, fegato e intestino. Anche in questo caso i provvedimenti necessari di volta in volta vengono programmati dal Centro trapiantologico di riferimento.

In caso di forme “tardive” quali sono i segni di riconoscimento?

Contattare prontamente il Centro in caso di rash cutaneo maculopapulare e/o ittero e/o diarrea profusa.

La **cGvHD** si manifesta con quadri di tipo sclerodermico localizzati o generalizzati, lichen, sindrome secca orale o oculare, malassorbimento, epatopatia, fascite, miosite, contratture, bronchiolite obliterante e i più svariati quadri “autoimmuni”.

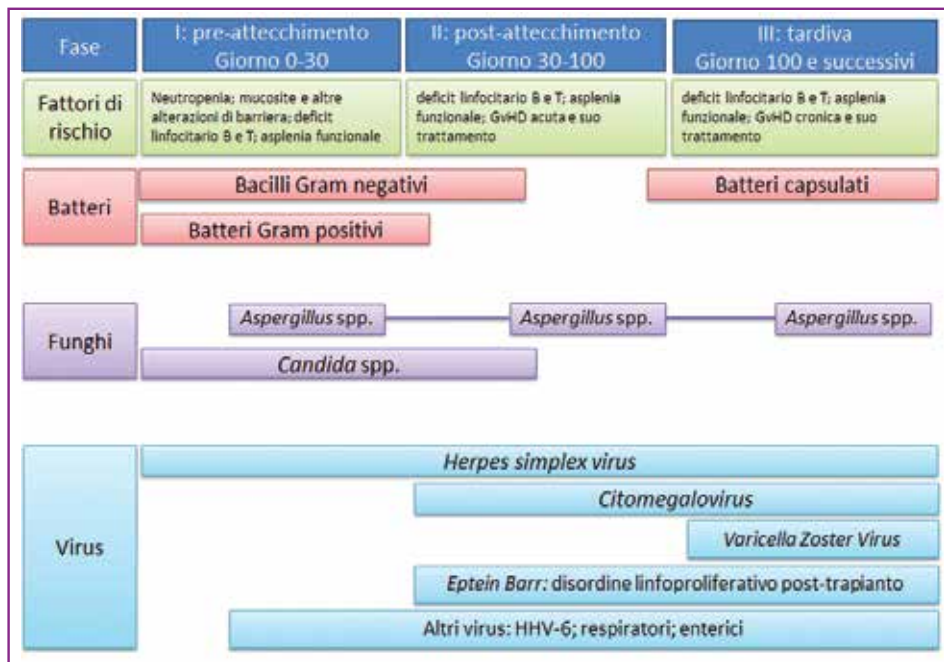
Quando contattare il Centro di riferimento?

Se il paziente sottoposto a TCSE dovesse presentare qualsiasi segno o sintomo sovrapposti e/o comunque una manifestazione di tipo autoimmune, è cruciale contattare immediatamente il Centro trapiantologico per concordare il miglior percorso diagnostico-terapeutico. Le altre complicanze tardive sono assai eterogenee e variano a seconda della patologia di base. La loro sorveglianza e trattamento sono previsti nei singoli specifici protocolli. La buona comunicazione tra Centro ospedaliero e territorio è garante di una corretta applicazione delle specifiche misure da adottare di volta in volta.

Infezioni

Come abbiamo detto, la complicanza più temibile post TCSE nel bambino è rappresentata dalle infezioni. Il rischio di infezioni è correlato al grado di immunosoppressione ed alla presenza di GvHD. In base ai fattori di rischio infettivi è possibile individuare tre fasi. Nella figura 1 sono riassunte, schematicamente, le diverse fasi post-TCSE, iniziale (0-30 giorni), intermedia (30-100 giorni) e tardiva (giorno 100 e successivi) con relativo rischio infettivo e patogeni di volta in volta coinvolti.

Figura 1. Cronologia delle infezioni predominanti dopo il trapianto di cellule staminali emopoietiche



Per la prevenzione delle infezioni, il lavaggio delle mani rappresenta al momento la forma di profilassi più efficace; si raccomanda perciò il più scrupoloso lavaggio delle mani sia per il bambino che per le persone che prestano assistenza. Gli schemi per la profilassi anti-infettiva farmacologica nelle varie fasi variano fra i diversi Centri in relazione anche alla epidemiologia locale. In generale, essa comprende solitamente farmaci antivirali (per esempio aciclovir), antifungini (per esempio fluconazolo) e antibatterici (per esempio cotrimossazolo).

Quando contattare il Centro di riferimento?

È importante contattare il Centro per ogni infezione sospettata, con o senza febbre, con o senza sintomi d'organo (sintomi respiratori, diarrea, eruzioni cutanee, disuria, stranguria o altri disturbi della minzione).

2. Gestione del catetere venoso centrale (CVC)

Un presidio fondamentale del percorso terapeutico dei bambini trapiantati è il posizionamento e l'utilizzo del CVC. Un CVC è un presidio la cui estremità distale termina a livello di un grosso vaso. La posizione della punta in una zona ad alto flusso permette un'ottimale emodiluizione garantendo la somministrazione in sicurezza di farmaci vescicanti, irritanti, chemioterapici, soluzioni iperosmolari e nutrienti. Il vantaggio di un catetere venoso centrale rispetto a una semplice ago-cannula è ormai più che validato, soprattutto nei pazienti cronici o che necessitano di lunghe ospedalizzazioni o lunghe terapie endovenose, in quanto garantisce il risparmio del letto venoso del paziente e riduce il dolore, lo stress e l'ansia associata alle multiple venipunture. La scelta del presidio idoneo per ciascun tipo di paziente porta a un miglioramento dell'outcome del paziente e si rivela vantaggioso nel rapporto costo-efficacia.

Quali sono le complicanze CVC-correlate?

Le principali complicanze CVC-correlate sono le infezioni, le occlusioni e la rottura del CVC stesso.

Come riconoscere le complicanze CVC correlate?

È necessario monitorare quotidianamente il sito di emergenza del catetere, visivamente quando si cambia la medicazione o mediante palpazione attraverso la regolare medicazione, a seconda della situazione clinica del singolo paziente.

In un portatore di CVC ogni episodio di febbre senza un'apparente causa indica che immediatamente la medicazione debba essere rimossa per permettere l'esame approfondito del sito.

Le infezioni localizzate al sito d'inserzione del CVC sono caratterizzate da uno più dei seguenti segni e sintomi:

- arrossamento cutaneo;
- tumefazione;
- secrezione anomala o purulenta all'emergenza;
- dolore;
- cattivo odore.

Per la valutazione visiva dei segni di infezione e il relativo trattamento, utilizzare il seguente score clinico per i CVC (Tabella 1).

Tabella 1. Score clinico di valutazione per i CVC

GRADO 0	GRADO 1	GRADO 2	GRADO 3
Cute sana, non segni di flogosi	Iperemia <1 cm al punto di uscita del CVC; +/- fibrina	Iperemia >1 cm e <2 cm al punto di uscita del CVC; +/- fibrina	Iperemia, secrezione, pus; +/- fibrina
Medicazione standard	Clorexidina gluconato a 0,5% in alcol isopropilico 70%, ogni 2 giorni	Eseguire tampone cutaneo; medicazioni ravvicinate. Clorexidina gluconato a 0,5% in alcol isopropilico 70%, ogni 2 giorni. Se il tampone è positivo, trattare con antibiotici	Eseguire tampone cutaneo; medicazioni ravvicinate ogni 1-2 giorni. Trattamento antibiotico sistemico immediato

Nei cateteri parzialmente impiantati (tunnellizzati) si deve valutare anche il tragitto sottocutaneo del catetere; nei totalmente impiantati (Port) valutare sia il tratto sottocutaneo che la tasca.

Quando contattare il Centro di riferimento?

In caso di *score* > 1 e/o altri segni di complicanze, contattare prontamente il Centro di riferimento.

3. Quando il bambino trapiantato può rientrare in comunità?

Il bambino sottoposto a TCSE autologo potrebbe rientrare in comunità tra i due e quattro mesi circa dopo il trapianto. Invece, per il paziente sottoposto a TCSE allogenico il reinserimento in comunità deve essere valutato caso per caso in base al recupero della

risposta immunologica e in base alla presenza di complicanze trapianto-correlate. In genere questo non avviene prima dei 6-12 mesi e comunque richiede un preventivo accordo con il Centro di riferimento.

4. È possibile fare attività sportiva?

L'attività fisica migliora la qualità della vita, l'umore e la prestazione fisica dei bambini sottoposti a trapianto, riduce lo stress psicologico e l'astenia. In caso di piastrinopenia, ovviamente, sono da evitare le attività a rischio di trauma e può essere consigliato semplicemente il camminare. In generale il nuoto è controindicato per il rischio infettivo ed è assolutamente da vietare nei portatori di CVC. Alcuni Centri consigliano dopo la dimissione per la prima settimana riposo, con ripresa dell'attività fisica gradualmente nelle successive 3 settimane, iniziando con passeggiate e cyclette. Si consiglia inoltre di non riprendere le attività sportive agonistiche per almeno 6 mesi. È opportuno tuttavia concordare con il Centro un programma personalizzato a questo proposito.

5. È possibile tenere animali domestici?

In generale sarebbe consigliabile non stare a stretto contatto con gli animali domestici per i 6 mesi successivi al trapianto. Si consiglia comunque di mantenere gli animali in buona salute (controlli veterinari frequenti) e di evitare contatti con animali malati. È sempre raccomandato l'accurato lavaggio delle mani dopo contatto con animali. Si consiglia inoltre di evitare le aree con stormi di uccelli e loro escrementi e vasche di pesci.

6. Il bambino trapiantato può viaggiare?

I viaggi non indispensabili in luoghi esotici e che richiedano particolari vaccinazioni (per esempio febbre gialla) sono sconsigliati. In ogni caso questi viaggi dovrebbero essere effettuati solo dopo la sospensione delle terapie immunosoppressive e in genere dopo 6-12 mesi dal trapianto o dallo spegnimento di una GvHD. In ogni caso sono raccomandate le precauzioni usuali per tutti i viaggiatori (attenzione all'ingestione di cibo e acqua possibilmente contaminati, evitare di assumere ghiaccio, ecc.), evitare di bagnarsi (anche solo i piedi) in laghi o stagni di acqua dolce e camminare a piedi nudi.

IL BAMBINO IN TERAPIA SOSTITUTIVA CON IMMUNOGLOBULINE

A. Soresina

Il trattamento sostitutivo con immunoglobuline (Ig) rappresenta la terapia elettiva e salvavita delle immunodeficienze primitive a prevalente difetto dell'immunità umorale, mentre per le forme di immunodeficienza combinate (umorale e cellulare) questo trattamento è di supporto al trapianto di midollo osseo che rappresenta la terapia elettiva (Tabella 1).

L'utilizzo delle Immunoglobuline durante questi ultimi vent'anni ha permesso ormai di dimostrare con rigore scientifico e anche con la forza dell'*evidence based medicine* che con i dosaggi "standard" fino a ora considerati protettivi (400 mg/kg ogni 21-28 giorni per le Ig per via endovenosa, IVIG, e 100-150 mg/kg/settimana per le Ig sottocute, SCIG), è stato possibile ridurre le infezioni e migliorare la qualità di vita nei soggetti con ID da difetto anticorpale.

Tabella 1. Indicazioni all'impiego delle Immunoglobuline come terapia sostitutiva

Immunodeficienze primitive	<ul style="list-style-type: none">- Agammaglobulinemia X e autosomica recessiva
	<ul style="list-style-type: none">- Immunodeficienza comune variabile- Immunodeficienza con Iper IgM- Sindrome linfoproliferativa X recessiva- Sindrome di Wiskott Aldrich- Difetto anticorpale nella atassia telangiectasia, nella Del22- Immunodeficienze combinate
Immunodeficienze secondarie	<ul style="list-style-type: none">- Bambini con infezione da HIV- Tumori con difetto anticorpale- Trapianto di midollo osseo- Trapianto di rene

Attualmente, quindi, è possibile anche la scelta della modalità di somministrazione, ovvero per via endovenosa e per via sottocutanea, sulla base delle diverse caratteristiche/necessità dei pazienti. In Italia, le IVIG possono essere somministrate solo in ambiente ospedaliero e le SCIG possono essere somministrate sia in ambiente ospedaliero che a domicilio. È chiaramente dimostrato che i livelli minimi delle IgG sono stabili in entrambi i regimi. Per la diversa via di somministrazione e i diversi intervalli i livelli mediani risultano più elevati e stabili nella somministrazione SCIG. Così come è dimostrato che, per quanto riguarda la prevenzione delle infezioni, l'incidenza annua di infezioni, sia totali che gravi, è sovrapponibile.

La scelta della terapia sottocute a domicilio è motivata da parte di pazienti/famiglie, come:

- scelta personale;
- maggiore autonomia;
- riduzione di giorni di assenza a scuola/lavoro per i pazienti;
- riduzione dei costi di viaggio e di giornate di lavoro perse per i familiari.

La terapia domiciliare consente al paziente di non doversi più recare regolarmente in ospedale e, considerando che l'infusione può essere effettuata nei momenti più convenienti per il paziente, si vengono così a ridurre le ore di assenza da scuola o dal lavoro. Ma altrettanto importante è la scelta dei pazienti più idonei da parte del personale sanitario, per:

- tolleranza del prodotto di SCIG;
- condizioni cliniche buone;
- buona compliance di paziente/famiglia alla terapia;
- affidabilità e capacità di gestione della terapia a domicilio.

È importante sottolineare che questa nuova opzione terapeutica richiede un adeguato periodo di training iniziale, di "addestramento" dei pazienti e familiari da eseguire presso il Centro specialistico da parte di personale sanitario qualificato. Il periodo di formazione in ospedale è mediamente di 3-4 settimane, da adattare poi a ogni singolo paziente/familiare, per insegnare modalità e tecnica di esecuzione della terapia, quali sono i fattori che controindicano l'esecuzione della terapia (febbre, ecc.), il riconoscimento di eventi avversi e le misure da intraprendere in tal caso. Mediamente gli eventi avversi sistemici sono dell'1% per quanto riguarda le SCIG versus il 4% per le IVIG; le reazioni locali ovviamente sono frequenti nella somministrazione sottocutanea, ma transitorie. Deve essere fornito anche un diario personale per registrare data di somministrazione, lotto del prodotto e il materiale necessario per l'infusione con la pompa stessa di infusione. Trattandosi di terapia domiciliare, durante tale periodo di training viene informato e coinvolto il pediatra/medico di famiglia, cercando di creare una rete tra l'ospedale, il servizio territoriale e il domicilio. Inoltre, le analisi di farmacoeconomia disponibili hanno dimostrato che la somministrazione domiciliare sottocutanea è economicamente vantaggiosa per il Servizio Sanitario Nazionale, consentendo di risparmiare sui costi dell'ospedalizzazione.

In Italia i prodotti di immunoglobuline sono farmaci erogati direttamente dal Servizio Sanitario Nazionale attraverso le farmacie ospedaliere o le singole Aziende-USL, coprendo l'intero costo e garantendo a tutti i pazienti la terapia adeguata. In questi ultimi anni vi è stato un ritorno alla somministrazione delle Ig per via sottocutanea. Ciò è stato reso possibile dalla commercializzazione di prodotti specificamente preparati per la somministrazione attraverso questa via. Nelle preparazioni in commercio di SCIG la concentrazione di IgG è mediamente del 16%, contenendo IgG monomeriche

in concentrazione di almeno il 95% con presenza di tutte le sottoclassi IgG e trascurabili quantità di IgA. Sono attualmente disponibili prodotti più concentrati (concentrazione di IgG del 20%) che si sono dimostrati ben tollerati e ugualmente efficaci con il vantaggio di ridurre i tempi di somministrazione delle stesse Ig sottocute. Ancora più recente è la possibilità di utilizzare Ig sottocute al 10% con somministrazione mensile “facilitata” dalla pre-somministrazione di ialuronidasi umana ricombinante, permettendo l'utilizzo di volumi maggiori in un singolo sito di infusione ogni 3-4 settimane a domicilio, con efficacia e tollerabilità sovrapponibile a quella degli altri trattamenti con Ig. Le caratteristiche dei prodotti oggi disponibili in Italia sono riassunte nella Tabella 2.

Tabella 2. Terapia sostitutiva con immunoglobuline: preparati disponibili, modalità di somministrazione e caratteristiche

	IVIG	SCIG CONVENZIONALE	SCIG “FACILITATA”
Farmacocinetica	Livelli di IgG fluttuanti	Livelli di IgG stabili	Livelli di IgG più stabili che IVIG
Picco di IgG	Più elevato che SCIG	Più basso che SCIG	Più basso che IVIG Più elevato che SCIG convenzionali
Dosaggio/intervallo	Infusioni ogni 3-4 settimane	Infusioni ogni 7-10 gg	Infusioni ogni 3-4 settimane
Modalità e luogo di infusione	Necessario accesso venoso Ospedale	No accesso venoso Ospedale Casa	No accesso venoso Ospedale Casa
Eventi avversi	Rari	Ancora più rari Possibilità per chi ha avuto eventi avversi con IVIG	Ancora più rari Possibilità per chi ha avuto eventi avversi con IVIG
Reazioni locali	Rari	Più frequente nel sito di infusione, ma transitori	Più frequente nel sito di infusione, ma transitori
Gradimento	Preferito per chi non ama gli aghi, per scelta medica	Miglioramento QdV (autonomia, tempo, flessibilità)	Miglioramento QdV (autonomia, tempo, flessibilità)
Costi	Costi ospedale	Riduzione costi personali e SSN	Riduzione costi personali e SSN

IVIG: immunoglobuline per via endovenosa; SCIG: immunoglobuline sottocute; SCIG “facilitata”: somministrazione di Ig sottocute “facilitata” dalla pre-somministrazione di ialuronidasi umana ricombinante

Da tutto questo risulta evidente quali progressi siano stati fatti nella terapia sostitutiva con immunoglobuline e come, attualmente, sia possibile per ciascun paziente e la sua famiglia disporre di diverse opzioni che permettono di individualizzare un trattamento continuativo a seconda dell'età, delle condizioni di salute, degli impegni scolastici-lavorativi, sociali, ecc., migliorando la compliance alla terapia stessa e di conseguenza la qualità di vita quotidiana.

Bibliografia

- Apperley J, Carreras E, Gluckman E et al. The 2012 revised edition of the EBMT-ESH Handbook on Haematopoietic Stem Cell Transplantation. Disponibile al sito web: <https://ebmtonline.forumservice.net/>. Ultimo accesso effettuato il 6 luglio 2016.
- Kılıcarslan Toruner E, Altay N, Kisecek Z. Determine the difficulties of home care in children following haematopoietic stem cell transplantation. *Eur J Cancer Care (Engl)* 2016;25:661-7.
- Moors I, Schoemans H, Callens S, Beguin Y, Kerre T. Vaccination guidelines in haematopoietic transplant patients: recommendations from the BHS Transplant Committee Belg *J Hematol* 2014;5:44-54.
- Ljungman P, Cordonnier C, Einsele H et al. Vaccination of hematopoietic cell transplant recipients. *Bone Marrow Transplantation* 2009;44:521-6.
- Area "Linee Guida e Consensus". Associazione Italiana Oncologia Ematologia Pediatrica. Disponibile al sito web <http://www.aieop.org/web/index.php>. Ultimo accesso effettuato il 6 luglio 2016.
- Robinson PD, Lehrnbecher T, Phillips R et al. Strategies for Empiric Management of Pediatric Fever and Neutropenia in Patients With Cancer and Hematopoietic Stem-Cell Transplantation Recipients: A Systematic Review of Randomized Trials. *J Clin Oncol* 2016;34:2054-60.
- Maarschalk-Ellerbroek LJ, Hoepelman IM, Ellerbroek PM. Immunoglobulin treatment in primary antibody deficiency. *Int J Antimicrob Ag* 2011; 37:396-404.
- Plebani A, Lougaris V, Soresina A et al. Terapia con Immunoglobuline: indicazioni, modalità di somministrazione e meccanismi d'azione. *Prospettive in Pediatria* 2013;43:215-24.
- Espanol T, Prevot J, Drabwell et al. Improving current immunoglobulin therapy for patients with primary immunodeficiency: quality of life and views on treatment. *Patient Prefer Adherence* 2014;8:621-9.
- Jolles S, Orange JS, Gardulf A et al. Current treatment options with immunoglobulin G for the individualization of care in patients with primary immunodeficiency disease. *Clin Exp Immunol* 2015;179(2):146-60.

L'immunodeficienza come modello di assistenza

M. Fiore

L'assistenza sul territorio. Le IDP come modello assistenziale

I bambini affetti da malattie rare/croniche costituiscono una realtà che richiede risorse e competenze specifiche da parte delle strutture sanitarie nazionali. Sono necessari percorsi di cure e reti di servizi appositamente costituiti. Ovvio sono i problemi dei soggetti in trattamento ambulatoriale (accesso periodico in ospedale e conseguentemente interferenza con l'attività lavorativa dei genitori, distanza tra domicilio e Centro di assistenza, controlli periodici, ecc.), ma anche chi si sottopone a trattamento sottocutaneo domiciliare incontra difficoltà (fornitura del farmaco non sempre vicina al domicilio, controlli periodici). La formazione tecnica ed assistenziale di coloro che si dedicheranno all'assistenza del bambino con IDP (i cosiddetti caregivers) costituisce un aspetto molto importante per l'assistenza sul territorio.

La stretta collaborazione fra i Centri di terzo livello (pochi sul territorio nazionale) e gli ospedali di primo/secondo livello (più diffusi sul territorio) con il coinvolgimento attivo dei medici del territorio (pediatri di famiglia e/o medici di medicina generale) rappresenta la strategia di elezione per l'assistenza ai bambini affetti da IDP. Sul versante dell'assistenza quotidiana, come per altre malattie rare, le IDP si giovano della Rete delle malattie rare e, soprattutto, delle Reti dei genitori (associazioni di genitori) che fanno da supporto alle reti informative che garantiscono ampia diffusione di competenze assistenziali e gestionali con coordinamento centrale, anche sfruttando le nuove tecnologie. Le problematiche maggiori dell'assistenza domiciliare sono più rilevanti nei primi mesi successivi alla dimissione dall'ospedale. Il reparto viene vissuto come "luogo sicuro", mentre il ritorno a casa scatena paure ed angosce. Gli aspetti psicologici, del bambino stesso ma anche degli eventuali fratelli, di tutta la famiglia, sono particolari e da non trascurare nella gestione domiciliare di una IDP.

In molte realtà italiane sono attive sia le Unità di Valutazione Multidisciplinari, o multidimensionali, distrettuali (UVM-D) e sono, anche, attivi i PDTA (Piani Diagnostico Terapeutici Assistenziali). Questi sono strumenti che si dimostrano molto funzionali soprattutto per patologie frequenti. Le esperienze sono limitate, invece, in caso di patologie rare, soprattutto quelle dell'età infantile.

Nel caso delle IDP, il bambino affetto da patologia onco-ematologica rappresenta un ottimo esempio da seguire per le "affinità" che accomunano i due gruppi di patologie. Sicuramente ci sono esperienze in tal senso sul territorio italiano. Qui daremo brevi accenni a come dovrebbe/potrebbe essere costruito un PDTA per il bambino affetto da IDP anche in vista delle costituenti Aggregazioni Funzionali Territoriali (AFT) derivanti dalla Legge Balduzzi.



Percorso Aziendale/AFT

- 1ª fase:** breve corso pratico di aggiornamento sulle IDP, diretto ai pediatri afferenti all'Azienda/AFT. Vengono costruite conoscenze per arrivare al sospetto diagnostico precoce e alla attenta interpretazione degli esami di 1° livello.
- 2ª fase:** una volta inquadrato il sospetto diagnostico si individua il percorso migliore all'interno dell'Azienda (o della Regione) per arrivare ad effettuare gli esami di 2° e 3° livello al fine di porre la diagnosi.
- 3ª fase:** gestione congiunta fra pediatra di famiglia e Centro di 3° Livello, anche con l'aiuto e l'appoggio di un Centro ospedaliero aziendale (laddove non esiste Centro di 3° livello).
- 4ª fase:** gestione delle esigenze "a casa" (quindi non strettamente mediche) del paziente con IDP e della sua famiglia. Coinvolgimento delle strutture territoriali (infermiere del territorio, psicologo, assistente sociale, ecc.) con percorsi pre-stabiliti di concerto con il Distretto/Azienda che si attivano su richiesta del pediatra di famiglia. Questa è la fase della gestione del **bambino malato** e non della malattia. In Tabella 1 sono mostrati i principali passi che bisognerebbe effettuare per creare un modello assistenziale attorno al bambino con diagnosi di IDP.

La gestione del bambino con IDP va integrata, inoltre, facendo riferimento alla Rete IPINET a cui è dedicato un capitolo specifico di questa Guida.

Tabella 1. Principali azioni da mettere in pratica per l'assistenza al bambino con IDP (ipotesi)

• **RIDURRE I TEMPI PER LA DIAGNOSI DI IDP**

- migliorare le competenze per il sospetto diagnostico di una IDP. Verranno valorizzate le competenze sul campo e ne verranno create di nuove attraverso programmi specifici diretti ai pediatri (di famiglia ed ospedalieri)
- sapere che il compito del pediatra è solo quello di un cauto sospetto che poi indirizza al livello diagnostico successivo

• **MIGLIORARE LA GESTIONE DEL PAZIENTE CON IDP**

- acquisire dimestichezza con le indagini di 2° livello
- saper gestire le “normali” patologie acute, molto frequenti in età pediatrica
- sapere quando inviare, per un problema clinico, il paziente al Centro di 2° e/o 3° livello
- sapere quali vaccinazioni effettuare nel bambino con IDP
- acquisire conoscenze anche specifiche (gestione delle terapie antibiotiche, antivirali e antifungine, gestione degli eventuali effetti collaterali, conoscenza dei tempi e dei modi della terapia sostitutiva con immunoglobuline, ecc.)
- saper gestire la (eventuale) terapia domiciliare

• **SAPER GESTIRE LA VITA A CASA DEL PAZIENTE CON IDP**

- non abbandonare il paziente al momento della diagnosi
- instaurare una stretta e costante interazione tra il pediatra di famiglia e l'immunologo di riferimento del 3° Livello, per la gestione di tutti gli aspetti della malattia e della vita del bambino
- pianificare di concerto con il Distretto/ASL tutte le azioni volte a migliorare la qualità di vita del bambino con IDP (educazione sanitaria, sorveglianza condizioni di vita a scuola ed in famiglia)
- integrare le varie figure non mediche eventualmente indispensabili per una migliore cura del paziente con IDP (gestione psicologica del paziente e della famiglia, gestione delle questioni burocratico-amministrative, ecc.)

Conclusioni

Sapere e saper fare

1ª e 2ª fase: sospetto diagnostico

Come abbiamo visto nei paragrafi precedenti, non esistono sintomi “tipici”. Il principale sintomo con il quale il pediatra si trova a confrontarsi è sicuramente la febbre (episodi febbrili recidivanti) e/o le infezioni recidivanti. Sicuramente, in questi casi, i 10 sintomi di allarme della JFM (confronta capitolo) sono molto utili per discernere fra una IRR ed un sospetto di IDP. Nella nostra pratica clinica quotidiana, quindi, è particolarmente importante acquisire la capacità di sospettare una IDP anche di fronte a

patologie acute intercorrenti/ricorrenti apparentemente banali. Ci vengono in aiuto, a questo punto, le **indagini di laboratorio** di primo livello. Se ne è discusso nel capitolo dedicato: il momento fondamentale che ci può indirizzare al sospetto è la corretta interpretazione dell'**esame emocromocitometrico** nei suoi **aspetti quantitativi (numeri assoluti)**, e la interpretazione dei **livelli sierici di immunoglobuline** (tutte le classi: IgG, IgA, IgG ed IgE). Questi due esami ci permettono di inquadrare le IDP cosiddette "classiche", quelle sicuramente più frequenti. È già stata ampiamente discussa nei capitoli precedenti la gestione delle indagini di II° livello quali le sottopopolazioni linfocitarie, le immunoglobuline specifiche e le sottoclassi di IgG, tutte indagini che potrebbero essere chieste dal pediatra ma che è meglio far gestire all'immunologo pediatra che farà affidamento anche sulle indagini che valutano gli aspetti funzionali delle varie cellule del sistema immunitario.

3ª fase: cogestione del paziente con IDP. Come bisogna comportarsi in caso di...

Febbre ed infezioni

Se il bambino dovesse presentare un rialzo della temperatura (superiore a 38,5°), vanno somministrati gli antipiretici con le stesse modalità seguite in altri bambini. È importante sapere se il bambino è sottoposto a terapia con immunoglobuline endovena e quanto tempo è passato dall'ultima infusione. Va instaurato, in caso di forte sospetto per infezione di tipo batterico, un trattamento antibiotico. Se la febbre persiste, devono essere presi contatti con il Centro di riferimento e/o con l'ospedale di primo livello zonale, dove verranno effettuati gli esami del caso e/o instaurato un trattamento antibiotico più aggressivo.

Problemi cutanei

La presenza di lesioni cutanee va attentamente valutata dal medico. È importante accertarsi che non si tratti di una reazione allergica ai farmaci, per prendere gli opportuni provvedimenti.

Diarrea, nausea e vomito

Il bambino con IDP che presenta manifestazioni di una enterite infettiva va inizialmente trattato come gli altri bambini. Il rischio principale è la disidratazione. Particolare attenzione deve essere posta all'uso di "fermenti lattici vivi".

Vaccinazioni, scarso accrescimento, problematiche relative al trapianto

Questi argomenti sono stati ampiamente trattati in altri capitoli di questa Guida.

4a fase: follow-up dei bambini con IDP. Gli interventi sociali (famiglia, scuola, ecc.)

Molti degli aspetti (pratici) sono stati affrontati in un capitolo di questa Guida e quindi non li tratteremo. L'attenzione psicosociale, invece, dovrebbe consistere nei seguenti punti:

- **sostegno alla famiglia**, ritorno il più precocemente possibile ad uno stile di vita normale, favorire la comunicazione sia con gli operatori dell'équipe assistenziale, sia con l'ambiente sociale circostante;
- è fondamentale assicurare al bambino una **continuità del processo educativo**. La "normalità" viene assicurata anche dalla routine scolastica. Quest'ultima ha un duplice significato: oltre a favorire il normale svolgimento del curriculum scolastico, l'impegno dello studio assume i connotati di una fiducia nella guarigione e di normalizzazione.

Il programma di intervento psicosociale dovrebbe essere articolato attraverso la creazione di un **gruppo multidisciplinare** costituito da pediatri, infermieri, psicologi, neuropsichiatri infantili, insegnanti, assistenti sociali e volontari, le cui aree di intervento possono essere così sintetizzate:

- comunicazione della diagnosi;
- individuazione delle famiglie aventi necessità specifiche;
- supporto specifico in base ai bisogni del bambino e/o della famiglia;
- follow-up dei soggetti "fuori terapia";
- collaborazione con la struttura scolastica;
- supporto nella fase terminale.

Queste 4 fasi insieme alle potenzialità della Rete IPINET rappresentano il futuro dell'assistenza specialistica e territoriale per i bambini affetti da una IDP.

Bibliografia essenziale

1. Ugazio A.G. et al Il bambino immunodepresso perché lo è e come va difeso 1ª Edizione 1983.
2. Ugazio A.G. et al Il bambino immunodepresso perché lo è e come va difeso 2ª Edizione 1995.
3. AA.VV. European Primary Immunodeficiencies Consensus Conference. Consensus Report and Recommendations. http://ec.europa.eu/health/ph_projects/2005/action1/docs/action1_2005_frep_01_en.pdf.
4. Broccoletti T, Cirillo E, Aloj G et al. I quattro paradossi delle nuove immunodeficienze congenite. Rivista di Immunologia e Allergologia Pediatrica 2008;(3): 10-21.
5. AA.VV. Collana di Patologia Pediatrica – Plebani A. Immunologia Pediatrica (2ª Ed). 1998 McGraw – Hill Libri Italia srl.
6. Saurat JH, Woodley D, Helfer N. Cutaneous symptoms in primary immunodeficiencies. Curr Probl Dermatol 1985;(13): 50-91.

La rete delle immunodeficienze primitive (IPINET) in Italia

C. Pignata

IPINET nasce nel 1999, fortemente voluta da Alberto Ugazio e dai pediatri immunologi dei maggiori Centri italiani, con lo scopo di formulare raccomandazioni diagnostiche e terapeutiche per le immunodeficienze primitive (IDP) da applicare sul territorio nazionale. L'esigenza di un gruppo nazionale che si occupasse di IDP nasceva da alcuni problemi irrisolti. *In primis*, vi era l'osservazione che soltanto pochi Centri, quasi tutti concentrati nell'Italia centro-settentrionale, erano altamente specializzati nella diagnosi e nel trattamento delle IDP. Ciò a fronte del dato che molti pazienti provenivano in realtà dall'Italia centromeridionale (dove era nettamente superiore anche la natalità) con grande disagio per le famiglie dei pazienti costrette ai periodici controlli, talvolta con cadenza trimestrale, in Regioni molto lontane da quella di origine. Era ragionevole sperare che con l'elaborazione di protocolli diagnostici e di follow-up anche gli ospedali locali (che spesso hanno pochissima esperienza nel trattamento e nel follow-up di queste malattie) potessero fornire un contributo prezioso alla gestione di questi malati, evitando loro disagi e spese. L'IPINET trova la sua naturale realizzazione nell'ambito dell'**Associazione Italiana Ematologia Oncologia Pediatrica (AEIOP)**, non solo perché antesignana nella realizzazione dei protocolli nazionali di cure in ambito emato-oncologico, ma anche grazie alla lungimiranza, sensibilità e collaborazione dei Colleghi ematologi, *in primis* di Andrea Pession, che da allora coordina con i suoi e con Annarosa Soresina la raccolta e revisione dei dati, raccolti e centralizzati dal CINECA di Bologna.

Sono stati pertanto istituiti registri specifici per ognuna delle principali immunodeficienze grazie ai quali ognuno dei Centri facenti parte della rete ha la possibilità di registrare e condividere dati clinico-laboratoristici dei propri pazienti. In questo modo è stato possibile rendere omogenee su tutto il territorio nazionale le procedure diagnostiche per le maggiori immunodeficienze primitive e fornire linee di riferimento per la gestione terapeutica delle malattie e delle complicanze più frequenti. Inoltre, l'analisi delle informazioni immesse nei database ha permesso di conoscere la storia naturale di ciascuna malattia, di individuare le eventuali complicanze nonché l'efficacia e gli effetti collaterali delle terapie. Di conseguenza è stato possibile validare nel tempo i criteri diagnostici, aggiornare gli algoritmi e definire nel tempo criteri diagnostici univoci. In alcuni casi, al fine di contrarre i costi e garantire qualità ed esperienza, sono stati individuati alcuni laboratori sul territorio nazionale, ove è possibile centralizzare le analisi molecolari, evitando inutili duplicazioni di competenze e favorendo una reale sinergia tra i gruppi. L'elaborazione dei dati raccolti negli anni e gli studi clinici condotti hanno permesso di modificare e aggiornare gli schemi e le indicazioni terapeutiche e applicarli a tutti i pazienti. Va anche sottolineato che la possibilità di utilizzare i dati dei registri ha permesso di rispondere a quesiti scientifici di rilievo e a migliorare la conoscenza generale delle singole malattie con un impatto considerevole sulla qualità delle cure.

L'implementazione di studi di ricerca clinica, mirati alla definizione della storia naturale della malattia, ha come immediata ricaduta l'ottimizzazione degli interventi relativi sia all'identificazione precoce del paziente affetto da IDP, sia all'organizzazione del migliore percorso assistenziale e terapeutico. Attualmente, sono attivi sul territorio nazionale 62 Centri IPINET e sono stati raccolti dati di oltre 2.900 casi di IDPs. In Tabella 1 sono elencati i protocolli diagnostico-terapeutici elaborati con i relativi responsabili, che svolgono attualmente il ruolo di coordinatori delle attività connesse con quella specifica malattia.

Tabella 1. I Registri IPINET

PROTOCOLLO	RESPONSABILE
Agammaglobulinemia X-linked	A. Plebani (BS)
Agammaglobulinemia AR	A. Plebani (BS)
Immunodeficienza comune variabile	I. Quinti (RM)
Sindrome di Wiskott-Aldrich	L.D. Notarangelo (Boston), A.R. Soresina (BS)
Atassia-Teleangiectasia	M. Fiorilli, L. Chessa (RM)
Malattia granulomatosa cronica	D. De Mattia, B. Martire (BA)
Sindrome da delezione cromosoma 22	P. Rossi, C. Cancrini (RM)
Deficit selettivo di IgA	A. Pession (BO)
Sindrome da Iper IgE	R. Badolato (BS), M.C. Pietrogrande (MI)
Ipogammaglobulinemia transitoria dell'infanzia	V. Moschese (RM)
SCID/CID	C. Pignata (NA)
Sindrome IPEX	R. Bacchetta (MI), E. Gambineri (FI)

Il Futuro

Il gruppo di lavoro IPINET è attualmente impegnato in numerosi ambiti, al fine di implementare la qualità delle cure al paziente affetto da IDP. In alcuni casi la definizione della diagnosi a opera dei Centri specializzati risulta agevole, mentre in alcune situazioni la complessità del quadro clinico è talmente elevata che la diagnosi non è facilmente effettuabile e il paziente non è inquadrabile nelle forme classiche maggiori di IDP. A tal riguardo, tra le iniziative del gruppo di lavoro IPINET vi è la definizione di un sistema di *Virtual Consultation System*, che consenta la creazione di team multidisciplinari virtuali, costituiti da pediatri sub-specialisti esperti di immunodeficienze primarie, per favorire la discussione di casi clinici complessi o atipici, spesso con coinvolgimento multisistemico. In tal modo, grazie alle sinergie esistenti tra i vari gruppi, sarà possibile acquisire un "secondo parere" per l'inquadramento diagnostico del paziente e la migliore scelta terapeutica. L'esigenza di un "secondo parere" rappresenta in alcuni casi una reale necessità per l'elevata complessità di casi particolarmente rari, per i quali non esistono Linee Guida per la diagnosi o la gestione terapeutica. Tale tipo di approc-

cio, oltre a permettere di ridurre sensibilmente il ritardo diagnostico, favorirà anche l'integrazione delle competenze e la condivisione degli strumenti diagnostici tra i vari Centri. Dovrebbe essere una sorta di consulenza a distanza che consenta la trasmissione sicura di informazioni e dati di carattere medico nella forma di testi, immagini o altre forme, utili per ottenere indicazioni da uno o più colleghi, in ragione di una specifica formazione e competenza. La presenza contemporanea "in rete" di più specialisti, organizzata con servizi dedicati e interconnessi (multidisciplinarietà e multiprofessionalità dei professionisti coinvolti) e la collaborazione tra tali figure rappresenta quindi un obiettivo primario per la diagnosi e la gestione delle IDP, garantendo la continuità assistenziale ed evitando inutili fenomeni di migrazione sanitaria. Un esempio di confronto tra figure pediatriche sub-specialistiche è rappresentato dal modello della sindrome Del22, una sindrome riconducibile ad anomalie di sviluppo della 3° e 4° tasca branchiale, caratterizzata da un particolare fenotipo clinico, in cui la presa in carico globale del bambino richiede l'esistenza di un'équipe multidisciplinare di operatori e specialisti che operano nell'ambito di un percorso diversificabile in base all'età del paziente, alla presenza di sintomatologia clinica e alle più recenti Linee Guida. La costruzione di un "percorso" prevede non solo la definizione degli obiettivi, ma anche quella dei ruoli e per questo motivo è indispensabile la disponibilità di personale medico specializzato che si dedichi esclusivamente alle IDP così da permettere, in un settore così complesso, un miglioramento della qualità delle cure, assecondando e dando risposta ai bisogni immediati del singolo paziente. I percorsi diagnostico-terapeutici assistenziali (PDTA) si propongono di fornire degli schemi terapeutico-assistenziali sempre più efficaci al fine di migliorare la qualità di vita di questi pazienti che siano applicabili e riproducibili in maniera uniforme su tutto il territorio nazionale. Alcune Regioni hanno già adottato in questo ambito un PDTA dedicato alla sindrome Del22, che ha permesso un misurabile miglioramento della qualità delle cure. È auspicabile che la metodologia del PDTA sia estesa a tutte le Regioni ed elaborata per ciascuna delle IDP maggiori. Tra le altre iniziative promosse da IPINET vi è la produzione di un documento di consenso sul tema della prevenzione delle infezioni mediante vaccini nei pazienti con le diverse forme di immunodeficit primitivo o secondario. La scelta se vaccinare o meno quel paziente con un dato vaccino richiede sempre un momento di riflessione. Non ultimo, tra gli obiettivi che IPINET si pone per il prossimo futuro, vi è quello di implementare i progetti di ricerca nel campo delle IDP, favorendo il più ampio coinvolgimento dei giovani. La ricerca clinica e traslazionale ha un ruolo fondamentale nella Medicina moderna nel migliorare la qualità delle cure al malato complesso e, in particolare, nel definire l'intimo meccanismo di malattia del singolo individuo in un'ottica di *Medicina di precisione* e *Medicina personalizzata*. Va anche ricordato che il coinvolgimento dei giovani in progetti di ricerca clinica ha una forte valenza formativa: imparano ad affrontare situazioni cliniche difficili con senso critico, rigore metodologico, con l'utilizzo di tecnologie innovative, in una logica di Medicina fortemente basata sulle evidenze.

Infine non dimentichiamo che IPINET collabora attivamente con l'ESID (*European Society for Immunodeficiencies*) per il Registro Europeo e per la pianificazione di progetti clinici e di ricerca.

Glossario immunologico

L. Diaferio

Anticorpi: si definiscono anticorpi le immunoglobuline specificamente dirette verso un antigene. Le immunoglobuline migrano nella frazione gamma del tracciato elettroforetico e pertanto vengono chiamate anche gammaglobuline. Prodotte dalle plasmacellule, sono costituite da unità (monomeri) formate da due catene leggere (L) e due catene pesanti (H) in cui si differenzia una porzione variabile che ne condiziona la specificità anticorpale e una porzione costante che ne caratterizza la classe. Le unità possono essere singole (Ig monomeriche) o plurime (Ig dimeriche, pentameriche) a seconda della classe (IgA, IgG, IgM, IgE, IgD). Un soggetto può avere molte immunoglobuline (iperammaglobulinemia) ma scarsa o nulla attività anticorpale e, viceversa, può produrre anticorpi specifici anche se ipogammaglobulinemico.

Antigeni: molecole riconosciute come *non-self* che inducono una risposta anticorpale specifica. L'antigene, per stimolare il sistema immunitario, deve essere "visibile" e riconoscibile dal sistema immune.

Apoptosi: il termine apoptosi (dal greco *αποπτῶσις*, ovvero *απο-* per allontanamento e *-πτῶσις* per caduta), in riferimento alla caduta programmata delle foglie durante l'autunno, è stato mutuato dall'immunologia per definire il processo di eliminazione programmata delle cellule (morte cellulare). Il complesso recettoriale e citochinico che lo regola, se ben funzionante, consente tra l'altro l'eliminazione dei linfociti poco reattivi (selezione negativa) o troppo reattivi (autoreattivi) nel corso della maturazione intratimica, svolgendo un ruolo essenziale nella tolleranza centrale.

Cellule NK: cellule dell'immunità innata dotate di attività citolitica. Non hanno recettori specifici e giocano un ruolo chiave nell'eliminazione di cellule infettate e tumorali.

Cellule T regolatorie (Treg): si conoscono differenti fenotipi di cellule T ad attività regolatoria che hanno la funzione di mantenere la tolleranza periferica e di regolare le risposte infiammatorie sia Th1 che Th2 mediate.

Complemento: è una componente importante dell'immunità innata. Le diverse proteine che costituiscono la cascata del complemento possono essere attivate per via classica, via alterna o via lectinica. Dopo l'attivazione, le proteine divengono enzimaticamente attive e interagiscono in maniera sequenziale con quelle successive, portando alla formazione di macrocomplessi molecolari capaci di lisare alcune cellule batteriche o frammenti molecolari in grado di opsonizzare i microrganismi e di contribuire all'infiammazione.

Complesso Maggiore di Istocompatibilità (MHC): il complesso HLA (*Human Leucocyte Antigen*) è costituito da un gruppo di geni, localizzati prevalentemente sul braccio corto del cromosoma 6, che sintetizzano proteine di superficie nel contesto delle quali vengono presentate ai linfociti tutte le proteine cellulari. Solo così queste possono essere riconosciute come *self* (se sono proteine strutturali) o *non-self*, se sono derivate da mutazioni o da microorganismi infettanti la cellula.

Determinante antigenico (epitopo): porzione di antigene in grado di essere riconosciuta dal sistema immune e di indurre risposta anticorpale specifica.

Fagocitosi: processo attraverso il quale i fagociti, polimorfonucleati, monociti e macrofagi, ingeriscono il microrganismo dando inizio ai processi metabolici intracellulari che portano in ultima analisi all'eliminazione del germe (*killing*). In alcune immunodeficienze la fagocitosi è normale, ma è difettivo il "burst respiratorio", ovvero la capacità della cellula di produrre molecole come lo ione superossido (O_2^-), il perossido di idrogeno (H_2O_2) e l'ipoclorito ($HOCl$) che danneggiano la membrana del battere fagocitato provocandone la lisi.

Immunodeficienza Primitiva (IDP): identifica ogni malattia genetica caratterizzata da alterazioni nello sviluppo e/o funzione del sistema immunitario.

Immunodeficienza acquisita o secondaria (IDA): identifica ogni malattia caratterizzata da alterazioni nello sviluppo e/o funzione del sistema immunitario indotta da infezioni, farmaci e malattie croniche.

Immunità umorale: rappresenta il principale meccanismo di difesa contro i microrganismi extracellulari.

Immunità cellulare: mediata dai linfociti T, riveste un ruolo essenziale nella difesa dai microrganismi intracellulari, come virus e batteri intracellulari (es. micobatteri) e nella sorveglianza e tutela del *self*.

Immunità innata: è la risposta immediata che il sistema immune mette in atto nei confronti dei patogeni. Non è altamente specifica, ma è pronta e spesso efficace. Si realizza attraverso il riconoscimento di strutture molecolari dei patogeni (PAMP: *Pathogen-Associated Molecular Patterns*) da parte dei PRR (*Pathogens Recognition Receptors*), molecole recettoriali solubili o espresse sulla membrana cellulare (TLR: *Toll like receptors*) di molte cellule immunologicamente attive come i leucociti, i B linfociti maturi (*memory*) e le cellule epiteliali.

Immunità adattativa: è una risposta immune altamente specifica ed efficiente, seppur non immediata, che vede coinvolti simultaneamente i T e i B linfociti specifici.

Immunocomplesso: è una macromolecola costituita da un antigene strettamente legato al suo specifico anticorpo. Gli immunocomplessi sono solubili e vengono rapidamente eliminati dal sistema reticolo-endoteliale. Rappresentano quindi uno dei meccanismi di clearance di alcuni patogeni. Quando precipitano nei tessuti possono provocare danni anche gravi.

Linfociti B: nell'ontogenesi primaria originano e maturano nel midollo osseo, da cui migrano popolandogli organi linfoidi secondari. I linfociti B riconoscono e legano l'antigene specifico attraverso le immunoglobuline di membrana, attivandosi. L'attivazione induce espansione del clone (proliferazione) e maturazione in linfociti B di memoria e in plasmacellule, che sintetizzano e secernono anticorpi della stessa classe e specificità delle originali Ig di membrana.

Linfociti T: nell'ontogenesi primaria originano nel midollo osseo e migrano nel timo, dove maturano acquisendo i recettori antigene-specifici (TCR) ristretti al sistema HLA, che consentirà la discriminazione tra *self* e *non-self*. I linfociti T citotossici (CD8+) riconoscono antigeni *non-self* associati a molecole HLA di classe I e linfociti T *helper* (CD4+) riconoscono antigeni associati a molecole HLA di classe II. I linfociti CD4 potranno poi differenziarsi in Th1 o Th2, a seconda degli stimoli e del contesto infiammatorio in cui si trovano. Anche i linfociti T regolatori possono essere di derivazione timica.





