

MeB – Pagine Elettroniche

Volume V

Ottobre 2002

numero 8

PEDIATRIA PER L'OSPEDALE

L'infezione da citomegalovirus*

a cura di Giorgio Bartolozzi

(parte prima)

DIAGNOSI DIFFERENZIALI NEL NEONATO

Come si sa “il violino del neonato ha una sola corda”: in altre parole qualsiasi infezione che lo abbia colpito nella vita intrauterina, si presenta clinicamente con lo stesso quadro, sia che si tratti di una malattia da protozoi (toxoplasmosi), da spirochete (sifilide), da virus (rosolia, virus citomegalico) o da funghi.

Inoltre molti quadri clinici legati a errori congeniti del metabolismo si associano in epoca neonatale a epatite, trombocitopenia, epatosplenomegalia, encefalopatia e anemia, proprio come può avvenire in corso di infezioni feto-neonatali.

Tuttavia, anche se l'infezione congenita da virus citomegalico (CMV) non può essere diagnosticata solo sulla base dei segni e dei sintomi clinici, la presenza di microcefalia e soprattutto di perdita dell'udito suggerisce una diagnosi d'infezione da CMV.

L'INFEZIONE DA CITOMEGALOVIRUS NELL'OSPITE COMPROMESSO

Il CMV rientra fra i patogeni opportunisti (come la *Candida albicans*, la *Pneumocystis carinii*, la *Pseudomonas aeruginosa* e tanti altri); esso preferisce i pazienti che dimostrino un'alterazione dell'immunità cellulare (linfociti T), principalmente nei soggetti sottoposti a trapianti o con infezione da HIV o addirittura da AIDS.

In linea di massima la maggior parte delle infezioni da CMV nei soggetti immunocompromessi è dovuta a riattivazione del CMV, che ha infettato l'ospite in un passato lontano, spesso in modo inapparente. Altre volte, più di rado, il soggetto immunocompromesso presenta un'infezione primaria da CMV, che costantemente si accompagna ai segni e ai sintomi della malattia. Le più importanti sorgenti di infezione da CMV sono da un lato le trasfusioni di sangue intero o di derivati e dall'altra i trapianti di organo da soggetto sieropositivo per il CMV: sono stati descritti in letteratura molti casi di infezione primaria da CMV in soggetti che avevano ricevuto un trapianto di rene da un soggetto sieropositivo. Molte prove per stabilire la capacità preventiva di vaccini contro il CMV, sono state condotte in soggetti suscettibili, sottoposti a trapianto renale (Plotkin SA: *Cytomegalovirus vaccine*, *Am Heart J* 138:S484-7, 1999).

Le manifestazioni cliniche dell'infezione da CMV, sia essa primaria o da riattivazione, si correlano in modo stretto con il grado di alterazione immunologica dei soggetti trapiantati o con AIDS. Per esempio fra i trapiantati la più grave malattia da CMV si osserva nel trapianto di midollo allogenico e in pazienti trattati con immunosoppressione aggressiva. Fra i pazienti con AIDS, la maggior parte delle malattie da CMV avvengono in quelli in cui le cellule CD4 positive siano meno di 100/mcL.

Nei pazienti trapiantati l'infezione primaria è caratterizzata da febbre e leucopenia: inoltre spesso i pazienti sviluppano esantema, artralgia e aumento delle aminotransferasi sieriche. Tra le complicazioni più gravi nei soggetti trapiantati ricordo l'interessamento della funzione dell'organo trapiantato, la polmonite, le ulcere gastro-intestinali, l'epatite e le infezioni fungine anch'esse opportunistiche. Mentre fra i soggetti con AIDS i più frequenti problemi sono legati alla retinite, all'esofagite e alla colite; altre complicazioni meno frequenti sono l'encefalite, la neuropatia periferica, l'epatite e la polmonite.

Il trattamento nei pazienti con AIDS è essenzialmente palliativo e si basa sul ganciclovir, foscarnet e cidofovir per il controllo della malattia, seguiti da una terapia di mantenimento con uno di questi farmaci. La terapia di mantenimento è continuata fino a quando non migliori la funzione, che si deve stabilizzare a livelli sufficienti anche quando si sospenda il trattamento anti-CMV. L'associazione della terapia antiretrovirale di elevata efficacia (anti-HIV) porta a un miglioramento della funzione immune nei bambini e negli adulti infettati da HIV e quindi riduce rapidamente l'incidenza della malattia da CMV.

D'altra parte nei soggetti trapiantati, negli ultimi 20 anni, l'incidenza della malattia da CMV si è ridotta in modo significativo con l'uso degli antivirali specifici sia nella profilassi che nel trattamento.

DIAGNOSI DI LABORATORIO

L'infezione congenita da CMV viene diagnosticata con la dimostrazione del virus nelle urine o nella saliva del neonato. La dimostrazione con i tradizionali metodi di coltura, può richiedere fino a 2 settimane per ottenere i risultati.

I metodi di coltura rapida (“shell vial assay”) usano la centrifugazione per aumentare l'infettività e l'anticorpo monoclonale per dimostrare immediatamente gli antigeni precoci nelle cellule infettate di tessuto, per cui i risultati possono essere ottenuti in 24 ore. La PCR (Polymerase Chain Reaction), con la sua capacità di mettere in evidenza piccole quantità di CMV-DNA, viene usata in qualche laboratorio, ma non è ancora chiaro se essa offre effettivamente vantaggi nei confronti della coltura, anche perché i neonati infettati con CMV, eliminano con la saliva o con le urine quantità elevatissime di virus.

Non sono usati, per la diagnosi d'infezione congenita da CMV, metodi per dimostrare nel neonato la presenza di IgM specifiche: essi non offrono alcun vantaggio sulla coltura virale o sulla PCR; sono inoltre risultati meno sensibili e più soggetti a dare risultati falsamente positivi.

Entro quanto tempo dalla nascita un isolamento virale s'identifica con un'infezione congenita?

La dimostrazione del CMV entro le 3 settimane di vita è da considerare come una prova d'infezione congenita da CMV.

Infatti il neonato o il lattante che acquisisce il CMV al momento della nascita (attraverso le secrezioni materne presenti nel canale del parto) o attraverso l'allattamento al seno, inizia ed eliminare virus nei liquidi dell'organismo (urine e saliva) dopo molte settimane.

Un isolamento dopo le 3 settimane dalla nascita non permette di differenziare se il virus sia stato acquisito prenatalmente o perinatalmente. La diagnosi d'infezione congenita al di là delle 3 settimane di vita richiede una combinazione di dati clinici e di laboratorio per il CMV.

La distinzione fra infezione da CMV congenita o acquisita intrapartum o con il latte del seno, ha un'importanza prognostica elevata, perché l'infezione perinatale o postnatale non si associa a sofferenza del sistema nervoso centrale (calcificazioni e altro) né a conseguenze auditive, tipiche dell'infezione congenita.

La diagnosi d'infezione in un soggetto immunocompromesso è molto più difficile di quanto non sia la diagnosi d'infezione congenita in un neonato. Il problema nell'immunocompromesso non è tanto se il paziente ha un'infezione da CMV, quanto nel determinare se il CMV che è stato trovato è o meno causa di malattia. La maggioranza dei pazienti immunocompromessi elimina infatti CMV nella saliva e nelle urine senza essere necessariamente ammalato per questa ragione. Le modalità di diagnosi d'infezione da CMV in soggetti immunocompromessi si basano di preferenza su esami di laboratorio generali e locali.

La sierologia dà risultati molto limitati. Fra i pazienti infettati con HIV, quelli trapiantati e i donatori di organo, la presenza di anticorpi IgG verso il CMV è un buon indicatore di una passata infezione e di un aumentato rischio di una malattia da CMV in presenza di una compromissione immunitaria. Questo esame identifica la situazione problematica del donatore positivo/negativo che comporta un alto rischio d'infezione primaria e di malattia da CMV nell'immediato periodo posttrapianto.

La dimostrazione del CMV nel sangue è un miglior predittore di malattia nei soggetti immunocompromessi, che escretano virus nelle urine e in altri liquidi corporei. La correlazione fra risultati di laboratorio e malattia clinica viene rinforzata dalla quantità di virus nel sangue.

La tradizionale coltura virale serve a poco per la dimostrazione della viremia e non permette la quantificazione del virus nel sangue. Servono invece prove quantitative per la dimostrazione delle cellule bianche positive per la ricerca degli antigeni del CMV mediante l'immunofluorescenza (antigenemia), come serve anche la PCR quantitativa.

TRATTAMENTO

Tre agenti antivirali sono stati approvati negli USA per trattare le infezioni da CMV in soggetti immunocompromessi: il ganciclovir (Cytovirax o Cymevene), il foscarnet (Foscavir) e il citofosfate (non in commercio in Italia al 30 ottobre 2002). Il più studiato è il ganciclovir, usato per il trattamento dell'infezione congenita da CMV. Sebbene questi farmaci siano lontani dal farmaco ideale, per indice terapeutico, costo, facilità di somministrazione, tossicità e farmacodinamica, è importante riconoscere che il loro uso ha ridotto il peso della malattia da CMV nei pazienti immunocompromessi.

Il trattamento d'induzione e poi di mantenimento nella retinite da CMV, in pazienti in stadio avanzato di AIDS, hanno differito la perdita della visione e hanno prolungato la vita. Nei pazienti con trapianto di midollo, l'insorgenza di una grave malattia da CMV è discesa dal 25% a meno del 5% nella maggioranza dei centri, in seguito all'uso degli antivirali nella prevenzione della malattia da CMV.

Nonostante gli studi, ai quali accennavo in precedenza, nessun agente antivirale è stato approvato negli USA per il trattamento delle infezioni congenite da CMV. Tuttavia è già stata completata una ricerca random in fase III con il ganciclovir verso nessun trattamento nei neonati con grave infezione congenita, che ha dimostrato risultati favorevoli. I soggetti trattati avevano un'infezione sintomatica da CMV, con segni d'interessamento del sistema nervoso centrale, come microcefalia, calcificazioni intracraniche o alterazioni neurologiche. I pazienti vennero trattati o per 6 settimane con ganciclovir o senza nessun trattamento; l'obiettivo primario fu la valutazione dell'udito. I risultati dimostrarono un'associazione altamente significativa fra trattamento con ganciclovir e mancata progressione della perdita di udito, dopo un controllo a distanza di 2 anni. La tossicità più spesso dimostrata in questo studio fu la neutropenia, presente nel 63% dei soggetti che avevano ricevuto ganciclovir contro il 20% nei soggetti che avevano ricevuto il placebo: non è chiaro quali implicazioni cliniche abbia la neutropenia.

Rimane da stabilire se questo beneficio si prolunghi nel tempo e se non si associ a qualche tipo di rischio.

Per esempio alcuni neonati presentarono un peggioramento della retinite dopo la sospensione del ganciclovir. Inoltre il ganciclovir è dotato di una potenziale tossicità riproduttiva e di carcinogenicità, che può non dimostrarsi finché i soggetti non abbiano raggiunta la maturità.

D'altra parte va anche tenuto conto che in questa prova sono stati arruolati i soggetti più gravemente colpiti. Il rapporto rischio/beneficio può essere sufficientemente basso per questi pazienti, tale da giustificare il trattamento, mentre il rapporto rischio/beneficio potrebbe essere maggiore per i pazienti che siano asintomatici alla nascita o che siano colpiti in modo meno grave di quelli che hanno partecipato alla prova.

I bambini che hanno presentato un'infezione congenita da CMV sono a rischio di sviluppare ritardi di sviluppo, alterazioni neurologiche, ritardo mentale, alterazioni della vista e perdita di udito. Il loro controllo a distanza prevede appunta-

menti precisi per permettere una precoce identificazione dei problemi.

Nella Tabella 6 viene riportata una modalità per l'esecuzione dei controlli a distanza.

Tutti i neonati con infezione congenita da CMV debbono essere sottoposti alle prove audiometriche e ad esami oculisti-

ci usando l'oftalmoscopia indiretta. Il pediatra deve ricercare con accuratezza lo sviluppo neurologico nel quadro delle visite di controllo. Quando venga trovata un'alterazione, può essere utile consultare uno specialista in neurologia e in neuropsicologia (negli USA come in altri Paesi non esiste la figura del neuropsichiatra infantile).

Valutazione	Età raccomandata
Audiometria: potenziali evocati auditivi o emissioni otoacustiche almeno a 12 mesi	Neonato, 3, 6, 9, 12, 18, 24, 30, 36 mesi, e poi ogni anno fino all'età scolare
Oftalmoscopia: funzione visiva	Neonato, 12 mesi, 3 anni e prima di entrare a scuola
Esame neurologico/valutazione dello sviluppo da parte del pediatra	Ogni controllo di salute prima di entrare a scuola
Richiesta di visita neurologica e/o neuropsicologica	A seconda dei reperti clinici

Una precoce dimostrazione di sordità è particolarmente importante per le sue conseguenze sul linguaggio. Se vengono riscontrate alterazioni, viene raccomandata una più frequente valutazione, finché non sia stata ottenuta un'esatta valutazione. Per bambini che abbiano una sordità prima dell'anno di età, è consigliabile una valutazione due volte per anno fino a 3 anni e poi annuale fino all'età della scuola.

PREVENZIONE DELLA DONNA IN GRAVIDANZA E DELL'INFEZIONE CONGENITA DA CMV

Le principali sorgenti d'infezione nella donna in gravidanza sono i contatti con i bambini più piccoli e i contatti sessuali. Tutti i bambini in età prescolare vanno considerati come delle potenziali fonti di infezione. Perché avvenga la trasmissione è necessario che ci sia un contatto con le secrezioni per cui è necessario evitare ogni contatto con i liquidi organici dei giovani bambini, insieme all'esecuzione di un lavaggio accurato delle mani, nel caso in cui dovesse avvenire questo contatto.

Per evitare la trasmissione per via sessuale viene consigliato alle donne in stato di gravidanza di avere contatti sessuali con un nuovo partner solo se questo è provvisto di preservativo.

E' indispensabile poter disporre di un vaccino efficace per prevenire le infezioni delle donne e quindi le malattie congenite.

Il vaccino

I vaccini contro il CMV sono stati preparati con virus vivo attenuato e con sub-unità di virus virus uccisi (G. Bartolozzi, Vaccini e vaccinazioni, Masson, Milano, 2002. pag. 704-8).

a) Vaccini a virus vivi

Sono stati studiati due vaccini vivi:

- un vaccino preparato nel Regno Unito usando il ceppo AD-169, con il quale vennero vaccinati soggetti adulti, che non è stato successivamente più studiato (Elek DS e Stern H, 1974)
- un vaccino, preparato da Plotkin (Plotkin SA et al, 1975, Plotkin SA, 1999), partendo da un ceppo isolato in un neonato con infezione congenita (ceppo Towne) e coltivato su fibroblasti di embrione umano per 125 passaggi.

Quando questo secondo vaccino venne impiegato per via sottocutanea o intramuscolare in soggetti adulti, fu riscontrata una sierconversione nel 100% dei volontari e una risposta cellulare specifica. Fu notata una reazione locale, dopo 7 giorni dall'inoculazione, che perdurò per altri 7 giorni; non si ebbero reazioni sistemiche.

Da studi successivi è stato concluso che il vaccino Towne determina un'infezione abortiva nella sede d'inoculazione, che stimola la produzione di anticorpi e una risposta cellulare, come dopo l'infezione naturale. Non venne notata escrezione virale dopo la vaccinazione (Plotkin SA, 1984).

Una delle prime applicazioni pratiche di questo vaccino fu quella nei soggetti sieronegativi che erano in procinto di essere trapiantati per il rene, ottenuto da donatori sieropositivi (Blazer JP et al, 1979). Lo studio venne fatto in doppio cieco; dopo 6 settimane dalla vaccinazione i candidati al trapianto ricevettero il rene non appena questo fu disponibile; dopo il trapianto tutti i soggetti vennero studiati sia da un punto di vista clinico, che virologico e sierologico per il CMV. Nonostante una scarsa risposta in anticorpi e in immunità cellulare, in conseguenza della stessa uremia, il vaccino sembrò fornire una parziale protezione, simile a quella dell'infezione naturale, che, come abbiamo visto, è essa stessa parzialmente protettiva (Plotkin SA et al, 1994).

Venne fatto inoltre un rilievo importante: mentre i pazienti che ricevettero il vaccino Towne e furono sottoposti a trapianto da soggetti sieronegativi, non escretarono il virus, quelli che ricevettero il rene da soggetti siero positivi eliminarono virus nelle urine, ma non si trattava del virus vaccinale, quanto piuttosto del virus selvaggio, che era ancora presente nel rene trapiantato (Plotkin SA e Huang ES, 1985). Viene concluso che il ceppo Towne non induce latenza, come il CMV selvaggio.

In questo il ceppo Towne di CMV si differenzia nettamente dal ceppo OKA del VVZ che presenta costantemente il fenomeno della latenza, come il VVZ selvaggio.

Uno studio è stato condotto anche in soggetti sani sierologicamente negativi per il CMV, sottoposti a un carico di virus selvaggio (Plotkin SA et al, 1985a): venne osservato che la vaccinazione di soggetti normali, li rendeva resistenti a un carico artificiale, dato per via parenterale, in modo lievemente inferiore ai soggetti che erano stati resi immuni naturalmen-

te. Risultò una volta di più che anche l'immunità naturale non era completa e che la resistenza dipendeva strettamente dalla quantità di virus somministrata.

In uno studio simile, condotto da altri ricercatori, il vaccino Towne fallì completamente: questa volta l'esperimento venne condotto per prevenire l'infezioni in madri sieronegative che erano in contatto con figli che escretavano il CMV. Una prova controllata non mostrò nessuna riduzione nella percentuale d'infezione fra donne vaccinate con Towne e donne trattate con il placebo (Adler SP et al, 1995). Il livello di anticorpi neutralizzanti dopo vaccinazione risulta da questo studio 20 volte inferiore a quello che si riscontra dopo l'infezione naturale.

La differenza riscontrata nei risultati dei due studi può derivare dal diverso genoma, presente in diversi ceppi di Towne (Cha TA et al, 1996): comunque sono necessarie ulteriori ricerche per esprimere un giudizio corretto su questo vaccino.

b) Vaccini a virus uccisi interi, a sub-unità e da ingegneria genetica

Gli studi per la preparazione di vaccini di questo genere sono stati inizialmente rivolti alle 3 principali proteine dell'involucro: gB, gH e gCII. Fra queste la scelta è caduta sulla proteina gB, verso la quale è diretto il 50% degli anticorpi neutralizzanti il CMV nei soggetti sieropositivi. L'impiego nell'uomo di questa proteina, altamente purificata, ha prodotto risposte sia in anticorpi che cellulari (Hudecz F et al, 1985; Gonczol E et al, 1990), ma a livelli non sufficientemente alti per ritenere che questa proteina possa essere utilizzata per la vaccinazione. Il gene di questa proteina è stato inserito in molti vettori (adenovirus 5, canarypox e altri) per indurre risposte immunitarie negli animali (Gonczol E et al, 1995). Ulteriori ricerche sono state eseguite con la proteina gB ricombinante nelle cellule di ovaio di hamster cinese, somministrata in un forte adiuvante, come l'MF-59 (Pass RE et al, 1995): latenti, vaccinati con questo vaccino, in 3 dosi a 0, 1 e 6 mesi, hanno presentato titoli di 1/638, più elevati di quelli presentati dall'adulto (Frey SE et al, 1999). Importante è risultata la presenza di anticorpi specifici della classe IgA, a livello delle mucose, nella maggior parte dei soggetti vaccinati. Durante questa esperienza non sono stati notati effetti collaterali spiacevoli (Mitchell DK et al, 1997).

La preparazione di un vaccino a partenza della proteina gB è complicata dal fatto, che in base alle ricerche eseguite esistono 4 diversi genotipi di questa proteina.

Nell'ambito della cosiddetta "rivoluzione verde" il gene della glicoproteina B è stato introdotto nella pianta del tabacco con buoni risultati (Tackaberry ES et al, 1999).

La recente possibilità di preparazione di vaccini a DNA allarga ancora le prospettive di poter avere a disposizione un vaccino efficace nei prossimi anni.

PREVENZIONE DELLE INFEZIONI NOSOCOMIALI E OPPORTUNISTICHE

Le precauzioni, di cui è stato già parlato, nei confronti delle secrezioni organiche e l'utilità del lavaggio accurato delle

mani sono molto utili anche per prevenire la diffusione del CMV dai pazienti al personale di assistenza e dai un paziente a un altro suscettibile.

Nella pratica i bambini con infezione da CMV non debbono essere considerati in modo specifico, né debbono essere prese nei loro confronti delle specifiche procedure di controllo; piuttosto tutti i bambini debbono essere considerati come potenziali diffusori del CMV.

Le infezioni acquisite tramite le trasfusioni possono essere prevenute limitando ai pazienti sieronegativi l'uso di prodotti del sangue, se non da donatori sieronegativi o allontanando i leucociti e le piastrine dal sangue intero, mediante speciali filtri. Questi provvedimenti valgono ancora di più per i bambini prematuri e per i soggetti immunocompromessi.

Tuttavia va ripetuto che nei soggetti immunocompromessi le infezioni da CMV sono la conseguenza di una riattivazione del virus endogeno. Sebbene queste infezioni non possano essere prevenute, un trattamento antivirale profilattico e l'immunizzazione passiva con preparazioni di immunoglobuline anti-CMV sono state usate isolatamente per prevenire la malattia dopo il trapianto.

* Pass R.F.: Cytomegalovirus infection, *Pediatr Rev* 23:163-78, 2002