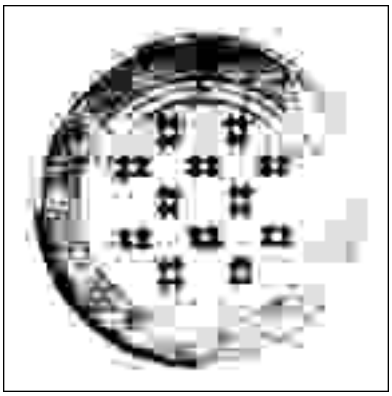
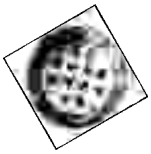
ISSN 0394 3291

Caleidoscopio *Italiano*



A. Nardini
I. Fiorini



Citomegalovirus, Herpes virus, Rubella virus.

(in gravidanza)

IMMUNOLOGIA e CLINICA

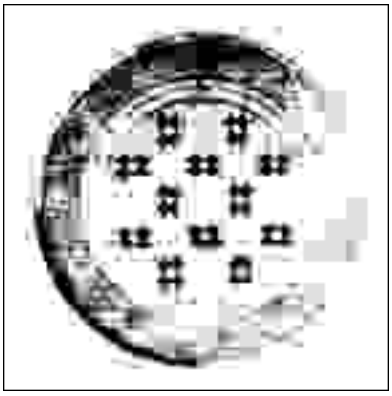
Direttore Responsabile
Sergio Rassu

6

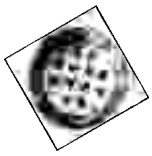
Via Rio Torbido, 40 - Genova (Italy) Tel. 010 83.401
Stampato a Genova 1984

Sped. in A. P. 45% - art.2 comma 20/b legge 662/96 - n° 6 - Luglio 1984 - Direttore responsabile: Sergio Rassu - Editore: Medical Systems S.p.A. Genova - Contiene I.P. - Stampa: Tipolitografia Nuova ATA Genova

Caleidoscopio
Italiano



A. Nardini
I. Fiorini



Citomegalovirus, Herpes virus, Rubella virus.

(in gravidanza)

IMMUNOLOGIA e CLINICA

6

Direttore Responsabile
Sergio Rassu

Via Rio Torbido, 40 - Genova (Italy) Tel. 010 83.401
Stampato a Genova 1984

ISTRUZIONI PER GLI AUTORI

Informazioni generali. *Caleidoscopio* pubblica lavori di carattere monografico a scopo didattico su temi di Medicina. La rivista segue i requisiti consigliati dall'*International Committee of Medical Journal Editors*. Gli Autori vengono invitati dal Direttore Responsabile. La rivista pubblica anche monografie libere, proposte direttamente dagli Autori, redatte secondo le regole della Collana.

Testo. La monografia deve essere articolata in paragrafi snelli, di rapida consultazione, completi e chiari. I contenuti riportati devono essere stati sufficientemente confermati. E' opportuno evitare di riportare proprie opinioni dando un quadro limitato delle problematiche. La lunghezza del testo può variare dalle 60 alle 70 cartelle dattiloscritte. Si prega di dattilografare su una sola facciata del foglio formato A4 con margini di almeno 25 mm. Usare dovunque doppi spazi e numerare consecutivamente. Ogni sezione dovrebbe iniziare con una nuova pagina.

Frontespizio. Deve riportare il nome e cognome dell'Autore(i) -non più di cinque- il titolo del volume, conciso ma informativo, la Clinica o Istituto cui dovrebbe essere attribuito il lavoro, l'indirizzo, il nome e l'indirizzo dell'Autore (compreso telefono, fax ed indirizzo di E-mail) responsabile della corrispondenza.

Bibliografia. Deve essere scritta su fogli a parte secondo ordine alfabetico seguendo le abbreviazioni per le Riviste dell'Index Medicus e lo stile illustrato negli esempi:

1) Björklund B., Björklund V.: Proliferation marker concept with TPS as a model. A preliminary report. J. Nucl. Med. Allied. Sci 1990 Oct-Dec, VOL: 34 (4 Suppl), P: 203.

2 Jeffcoate S.L. e Hutchinson J.S.M. (Eds): The Endocrine Hypothalamus. London. Academic Press, 1978.

Le citazioni bibliografiche vanno individuate nel testo, nelle tabelle e nelle legende con numeri arabi tra parentesi. La Redazione è collegata on-line con le più importanti Banche Dati (Medline, Cancerlit, AIDS etc) e fornisce ogni eventuale assistenza agli Autori.

Tabelle e figure. Si consiglia una ricca documentazione iconografica (in bianco e nero eccetto casi particolare da concordare). Figure e tabelle devono essere numerate consecutivamente (secondo l'ordine di citazione nel testo) e separatamente; sul retro delle figure deve essere indicato l'orientamento, il nome dell'Autore ed il numero. Le figure realizzate professionalmente; è inaccettabile la riproduzione di caratteri scritti a mano libera. Lettere, numeri e simboli dovrebbero essere chiari ovunque e di dimensioni tali che, se ridotti, risultino ancora leggibili. Le fotografie devono essere stampe lucide, di buona qualità. Gli Autori sono responsabili di quanto riportato nel lavoro e dell'autorizzazione alla pubblicazione di figure o altro. Titoli e spiegazioni dettagliate appartengono alle legende, non alle figure stesse.

Su fogli a parte devono essere riportate le legende per le figure e le tabelle.

Unità di misura. Per le unità di misura utilizzare il sistema metrico decimale o loro multipli e nei termini dell'International system of units (SI).

Abbreviazioni. Utilizzare solo abbreviazioni standard. Il termine completo dovrebbe precedere nel testo la sua abbreviazione, a meno che non sia un'unità di misura standard.

Presentazione della monografia. Riporre le fotografie in busta separata, una copia del testo e dei grafici archiviati su un dischetto da 3.5 pollici preferibilmente Macintosh.

Il dattiloscritto originale, le figure, le tabelle, il dischetto, posti in busta di carta pesante, devono essere spedite al Direttore Responsabile con lettera di accompagnamento. L'autore dovrebbe conservare una copia a proprio uso. Dopo la valutazione espressa dal Direttore Responsabile, la decisione sulla eventuale accettazione del lavoro sarà tempestivamente comunicata all'Autore. Il Direttore responsabile deciderà sul tempo della pubblicazione e conserverà il diritto usuale di modificare lo stile del contributo; più importanti modifiche verranno eventualmente fatte in accordo con l'Autore. I manoscritti e le fotografie se non pubblicati non si restituiscono.

L'Autore riceverà le bozze di stampa per la correzione e sarà Sua cura restituirle al Direttore Responsabile entro cinque giorni, dopo averne fatto fotocopia. Le spese di stampa, ristampa e distribuzione sono a totale carico della Medical Systems che provvederà a spedire all'Autore cinquanta copie della monografia. Inoltre l'Autore avrà l'opportunità di presentare la monografia nella propria città o in altra sede nel corso di una serata speciale.

L'Autore della monografia cede tutti i pieni ed esclusivi diritti sulla Sua opera, così come previsti dagli artt. 12 e segg. capo III sez. I L. 22/4/1941 N. 633, alla Rivista *Caleidoscopio* rinunciando agli stessi diritti d'autore (ed acconsentendone il trasferimento ex art. 132 L. 633/41).Tutta la corrispondenza deve essere indirizzata al Direttore Responsabile al seguente indirizzo:

Dott. Sergio Rassu
Via Pietro Nenni, 6
07100 Sassari

Editoriale

Con questo volume interrompiamo momentaneamente il filo del discorso sulle problematiche endocrine per affrontare un tema per il quale ho avuto numerose richieste e che è di estrema attualità non solo per il crescente sviluppo delle conoscenze di fisiopatologia ma anche per lo sviluppo delle metodiche di diagnosi prima non disponibili.

Per parlare di alcune delle più importanti infezioni virali in corso di gravidanza la Rivista ospita questa volta i dottori Nardini e Fiorini la cui esperienza nel settore è peculiare e che hanno raggiunto il non semplice risultato di riportare in termini chiari e facilmente decodificabili un discorso estremamente complesso.

Ritengo che il Patologo Clinico, l'Ostetrico, l'Infettivologo e tutti coloro che si occupano di questi problemi troveranno in questo volume quelle immediate valutazioni che a volte è difficile estrapolare da volumi più complessi.

Sergio Rassu

Introduzione

Tra le infezioni virali perinatali che, più frequentemente di altre, possono causare danni irreversibili al neonato, vengono descritte, in questo lavoro, quelle da virus rubeolico, da citomegalovirus e da herpes simplex virus.

Il virus della rosolia è in grado di passare il filtro placentare contagiando il feto in utero durante lo sviluppo. Le conseguenze dell'infezione congenita, siano esse l'aborto o l'alterata organogenesi, dipendono dal periodo della gravidanza durante il quale è stata contratta l'infezione. Poiché non esiste alcuna forma di terapia efficace per il neonato affetto da rosolia congenita, è di fondamentale importanza che la malattia sia prevenuta con opportune misure di profilassi vaccinica.

Il virus della citomegalia è stato riconosciuto responsabile della malattia da inclusi citomegalici. Il citomegalovirus può essere trasmesso al feto per via ematogena transplacentare o per contatto diretto con le vie genitali materne infette. Nel neonato la malattia può essere molto grave e ricorda clinicamente quella sostenuta dall'herpes simplex tipo 2.

Nella malattia da herpes virus tipo 2 l'agente etiologico può causare serie infezioni in neonati partoriti attraverso un canale da parto infetto. il virus è sicuramente trasmesso per via sessuale e sono possibili infezioni primarie, ricadute e infezioni secondarie. Le recidive possono manifestarsi con le stesse caratteristiche cliniche dell'infezione primaria e gli anticorpi sierici non sembrano quindi assicurare una protezione.

La terapia è problematica per cui tutte le donne in gravidanza dovrebbero essere accuratamente studiate sotto il profilo colturale, sierologico e clinico per la ricerca di virosi in atto o pregressa. Accertato che una paziente ha o ha avuto una infezione da herpes simplex tipo 2 si dovrebbe considerarla come una gravida ad alto rischio per quanto concerne la possibilità di partorire un neonato infettato.

L'importanza di queste acquisizioni deriva dalla possibilità di intervenire tempestivamente con adeguate misure (es. interruzione di gravidanza) e per svolgere azione preventiva nei confronti di queste infezioni.

La difesa contro queste virosi costituisce un importante problema sociale quantitativo e qualitativo per il numero di neonati colpiti e per la gravità delle manifestazioni morbose.

E' quindi doverosa una previdente attuazione dei vari mezzi profilattici, diagnostici e terapeutici che, unita ad una sempre più approfondita conoscenza biologica dei vari agenti causali, può evitare la nascita di bambini affetti da gravi malformazioni fisiche e psichiche.

Citomegalovirus

Definizione — L'infezione da Citomegalovirus (CMV) è sostenuta da un virus a DNA che appartiene alla famiglia dei virus herpetici. Il CMV fu inizialmente definito come "virus delle ghiandole salivari" perché responsabile di infezioni di questi organi. Studi successivi dimostrarono che questo virus può provocare nell'uomo una ampia serie di condizioni morbose.

Etiologia — Il CMV ha struttura icosaedrica, possiede una capside con 162 capsomeri circondata da un involucro lipidico e un diametro di 180-250 nm. Il virus esplica effetto citopatico che si manifesta con aumento di volume delle cellule ospiti nelle quali possono rilevarsi inclusi citoplasmatici e nucleari. In coltura tissutale l'effetto citopatico si propaga da una cellula all'altra fino ad estendersi alla totalità di esse. Nei periodi tra una recidiva e l'altra il virus albergherebbe nei linfociti B dell'ospite. Il CMV è ampiamente rappresentato nel regno animale e le specie più note sono quelle che infettano l'uomo, la scimmia, il topo e la cavia. Normalmente il CMV è specie-specifico e non è descritta la trasmissione dell'infezione dall'animale all'uomo.

Epidemiologia — L'incidenza dell'infezione è maggiore nelle popolazioni di basso livello socio-economico. Alla nascita lo 0.5-2%dei bambini elimina il virus con le urine mentre la percentuale sale a 9-60**%** ad un anno di età in rapporto alla qualità delle condizioni igieniche della popolazione esaminata. La maggioranza degli adulti possiede anticorpi contro il CMV. L'infezione è diffusa in tutto il mondo e, dopo di essa, le persone colpite possono continuare ad eliminare il virus per mesi o anni. I bambini infettati in periodo prenatale sono importanti fonti di infezione perché, in questi casi, l'eliminazione del virus si mantiene particolarmente a lungo. Ceppi specie-specifici di CMV, antigenicamente eterogenei, sono stati isolati dalla saliva, dal latte materno, da secrezioni cervico-uterine, dallo sperma, dalle feci e dalle urine di soggetti che pure possedevano anticorpi specifici anti-CMV. Il virus è fragile e sopravvive poco tempo al di fuori delle cellule ospiti per cui la trasmissione dell'infezione richiede che avvenga un contatto stretto fra escretore e soggetto suscettibile.

INFEZIONE PRIMARIA — Può avvenire in epoca diversa:
— prenatale, per infezione transplacentare ematogena o ascendente;
— perinatale, per contatto con secreto cervico-uterino infetto durante il passaggio del prodotto del concepimento nel canale da parto;
— postnatale, per contatto con urine, saliva, latte materno, sperma, secreti cervico-uterini, feci;
— dopo trapianti d'organo o trasfusioni di sangue.

REINFEZIONE ENDOGENA — La riattivazione di una infezione primaria, passata in fase di latenza, può verificarsi per modificazioni del rapporto tra ospite e virus secondarie sia ad eventi fisiologici come la gravidanza o a condizioni debilitanti come gravi malattie, terapia immunosoppressiva, interventi chirurgici.

REINFEZIONE ESOGENA — E' sostenuta, probabilmente, da ceppi virali antigenicamente diversi ma, sotto il profilo patogenetico, è del tutto simile all'infezione primaria.

QUADRI CLINICI

Forma acquisita in epoca postnatale — In genere decorre in modo subclinico ma, altre volte, la sintomatologia è presente e caratterizzata da febbre, faringite, esantema, linfoadenomegalia generalizzata e splenOmegalia in un quadro similmononucleosico. Raramente subentrano complicanze rappresentate da pericardite, miocardite, polmonite interstiziale, epatite, ulcerazioni gastroenteriche, anemia emolitica, trombocitopenia. Nei bambini la malattia è spesso localizzata alle sole ghiandole salivari donde l'iniziale denominazione di "malattia virale delle ghiandole salivari ". Nella forma disseminata, invece, vari organi ed apparati, incluso il sistema nervoso centrale, risultano colpiti. Infine sono descritte infezioni associate a quelle da CMV e sostenute da batteri, miceti, altri herpes-virus e protozoi. In assenza di complicanze la malattia ha un decorso benigno e guarisce nel volgere di poche settimane.

Forma acquisita legata a particolari condizioni patologiche — L'infezione da CMV può complicare immunopatie, leucosi, tumori maligni in genere e si riscontra con una certa frequenza durante la terapia immunosoppressiva e dopo trapianti d'organo. In questi casi prevalgono le localizzazioni polmonari, epatiche, surrenali, gastroenteriche, nervose e oculari. La prognosi è spesso infausta.

Forma congenita — Consegue all'infezione fetale da CMV. L'infezione della gestante può determinare aborto e nati-mortalità, sindrome malformativa, infezione subclinica, malattia generalizzata ma è possibile anche la nascita di un neonato normale sieronegativo. L'infezione avviene per via ematogena, attraverso la quale, dopo aver invaso e superato la placenta, il CMV giunge al feto, oppure per contaminazione fetale ascendente da cervicite virale materna. Per questa via il CMV, provocando una endometrite, può determinare l'aborto o, per invasione placentare, indurre citomegalia congenita similmente a quanto si verifica per infezione ematogena transplacentare. Il neonato può infettarsi anche durante il passaggio nel canale da parto per

la presenza di una cervicite materna da CMV. Quest'ultima può durare a lungo e creare le premesse per la contaminazione del prodotto del concepimento in più gravidanze. Normalmente la malattia, nella sua espressione più grave, deriva dall'infezione intrauterina transplacentare, particolarmente se contratta nei primi tre mesi di gestazione. Contrariamente a quanto si verifica nell'infezione rubeolica, in cui danni fetali si hanno solo se la madre non è immune, il feto di una donna con anticorpi anti-CMV non è necessariamente protetto dall'infezione. Infatti è possibile l'infezione congenita da CMV in fratelli nati da gravidanze successive; è stata documentata l'analogia antigenica di due virus isolati da fratelli nati a tre anni di distanza l'uno dall'altro; sono noti casi di bambini affetti da infezione congenita da CMV nati da madri che già all'inizio della gravidanza possedevano anticorpi anti-CMV fissanti il complemento. Queste osservazioni necessitano ancora di una valutazione definitiva, tuttavia sembra che questi bambini non siano destinati a presentare i deleteri effetti della classica citomegalia. Non si può escludere però la possibilità di una evoluzione prolungata della malattia, con esiti a distanza, per la persistenza del virus all'interno delle cellule endoteliali e dei linfociti B pur in presenza di anticorpi circolanti materni e fetali.

Per certi aspetti la sintomatologia della citomegalia congenita ricorda quella della rubeola connatale ma se ne differenzia per la mancanza di malformazioni congenite costanti come la cataratta, la sordità e i vizi cardiaci, forse per il diverso periodo di invasione dei tessuti embrionari di questo virus rispetto a quello della rosolia.

Il quadro clinico della forma congenita classica è sempre grave e caratterizzato da sintomi variamente associati: ipotrofia pondero-staturale, anemia emolitica a lenta risoluzione, trombocitopenia con sindrome purpurica, sindrome emorragica, ittero precoce associato ad epotosplenomegalia, polmonite interstiziale, microcefalia, ritardo mentale, calcificazioni periventricolari ad occhiale, corioretiniti, atrofia dei nervi ottici, paralisi spastiche, fratture patologiche di ossa lunghe. La prognosi di questa forma è quindi sempre seria e la mortalità non è trascurabile. Oltre il quadro descritto esistono forme asintomatiche o paucisintomatiche con prognostico migliore anche se la maggior parte dei bambini che presentano alla nascita la malattia vanno poi incontro a ritardo mentale specialmente quando, tra le manifestazioni cliniche iniziali, figurava la microcefalia. Sono infine descritte forme attenuate con interessamento del solo sistema nervoso centrale.

Da quanto esposto, in relazione all'elevata incidenza dell'infezione nei neonati, per la non trascurabile mortalità che si associa alla forma grave e soprattutto in conseguenza delle menomazioni psico-neuro-somatiche che alla malattia possono far seguito, anche quando essa non si esprime nella sua completezza, ben si comprende l'importanza che riveste lo studio dell'infezione da CMV nelle donne in gravidanza. Per tale scopo, poiché la maggior parte delle infezioni decorre asintomatica e spesso anche i bambini

infetti sono asintomatici alla nascita per presentare sintomi gravi magari dopo un anno, è opportuno effettuare uno studio sierologico sistematico della popolazione femminile in epoca pre-concezionale e durante la gravidanza. La ricerca degli anticorpi appartenenti alla classe IgM, specifici per il CMV, quali indicatori dell'infezione in fase acuta è importante, soprattutto nei primi tre mesi di gravidanza, per la possibile attuazione di un intervento abortivo. Lo studio sierologico prevede anche la ricerca degli anticorpi specifici anti-CMV nei neonati eseguendo gli opportuni tests sul sangue prelevato dal funicolo.

Immunologia — Poche settimane dopo l'infezione da CMV l'organismo produce anticorpi appartenenti alla classe delle immunoglobuline IgM e, a distanza di una settimana dalla comparsa di esse, anticorpi della classe IgG. Normalmente le IgM anti-CMV aumentano di titolo per qualche settimana e poi diminuiscono lentamente in un periodo di 4-6 mesi (figura 1). In casi particolari questi anticorpi possono essere evidenziati anche per anni, forse per un persistente stimolo antigenico.

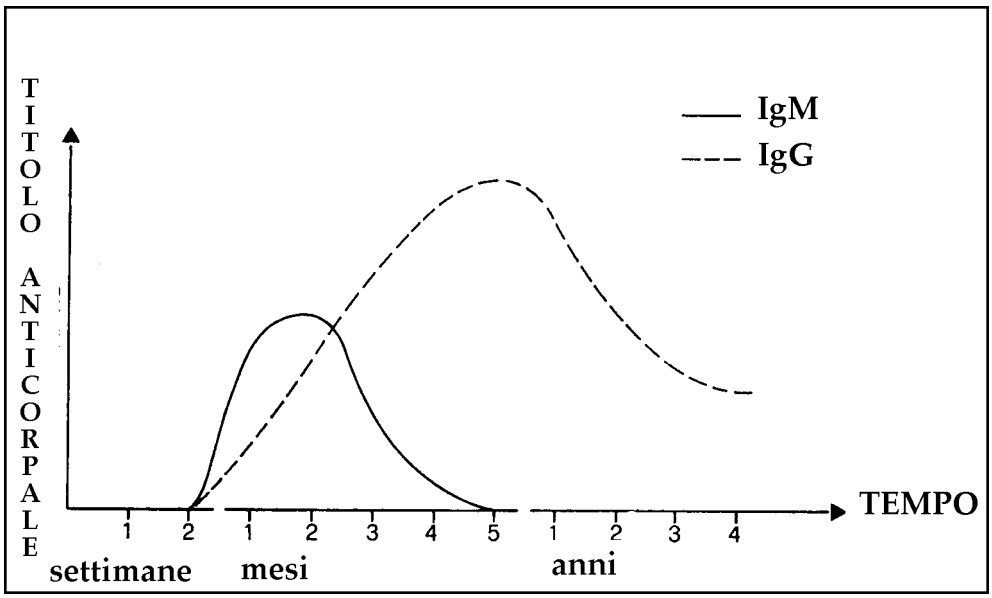


Figura 1. Risposta anticorpale all'infezione da CMV

In soggetti immunodepressi una risposta anticorpale di tipo IgM si può verificare anche durante una reinfezione (figura 2). Nel feto e nel neonato colpiti dall'infezione la sintesi degli anticorpi IgM anti-CMV più prolungata di quanto si verifica normalmente. Il riscontro degli anticorpi di tipo IgM è di notevole aiuto per la diagnosi di infezione acuta da CMV ma non è sempre possibile distinguere tra una primo-infezione e una riattivazione, sulla scorta del test per le IgM, perché anche le riattivazioni evocano talvolta una risposta immune di questo tipo. Falsi positivi, per reazioni crociate complicano la diagnosi in pazienti che sono affetti da mononucleosi infettiva o da herpes zooster. In sintesi possiamo documentare la presenza di anticorpi di tipo IgM nelle seguenti condizioni:

— IgM in corso di primo-infezione;
— IgM in casi di reinfezione o riattivazione;
— IgM presenti per lungo tempo per persistenza di stimolo antigenico.

Diagnosi - La diagnosi clinica di citomegalia è estremamente difficile per cui i dati di laboratorio sono di considerevole aiuto nella conferma dell'infezione. La sicurezza diagnostica dell'infezione da CMV si ottiene con l'isolamento del virus dal sangue, dalle urine, dalla saliva, da secrezioni cervico-uterine prima e dopo il parto, da materiale bioptico e autoptico. In realtà an-

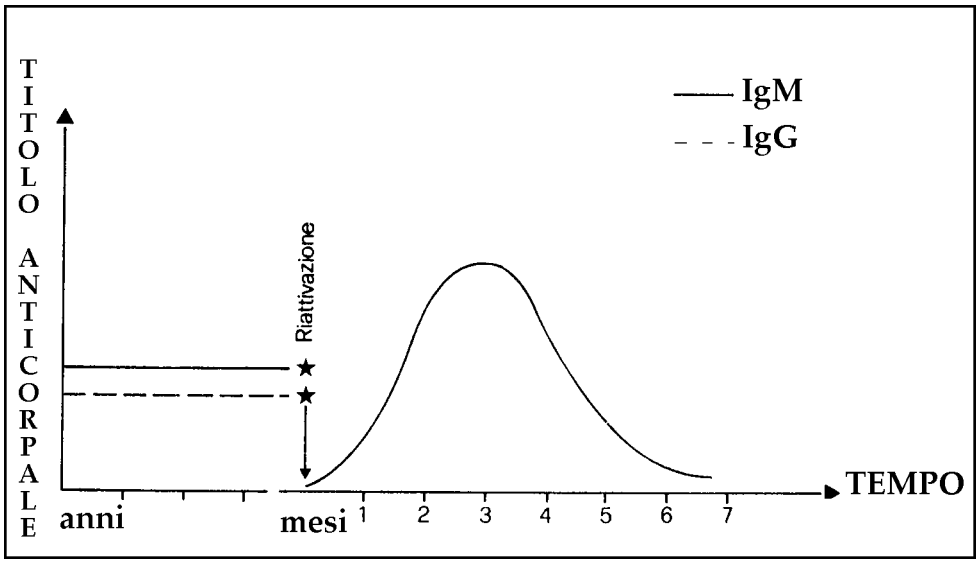


Figura 2. Risposta anticorpale alla riattivazione negli immunodepressi

che l'isolamento del virus non è elemento sufficiente per la diagnosi di malattia perché esso può essere eliminato anche da soggetti apparentemente sani e comunque per molti mesi dopo l'infezione. L'esame colturale prevede che il materiale in esame venga seminato, entro due ore dal prelievo, in colture di fibroblasti umani. Il metodo è costoso e indaginoso e necessita di 2-4 settimane prima che compaiano le manifestazioni citopatiche proprie dell'infezione virale.

Inizialmente queste sono caratterizzate dalla comparsa di nidi cellulari costituiti da cellule ingrandite, talora con granulazioni intracitoplasmatiche.

Successivamente il virus passa da una cellula alle adiacenti cosicché i foci si ingrandiscono e interessano la maggior parte dei fibroblasti.

La dimostrazione morfologica di inclusi da CMV è un metodo diagnostico poco sensibile in confronto agli esami colturali e a quelli sierologici. La ricerca di cellule epiteliali con inclusi nucleari eosinofili nel sedimento urinario è poco sensibile in quanto, a volte, malgrado la presenza certa della malattia, non si repertano le caratteristiche cellule.

Questo esame diviene più sensibile se ripetuto più volte e se viene impiegata la tecnica dell'arricchimento mediante filtro millipore e se l'esame viene eseguito precocemente dopo la raccolta del campione da esaminare.

I tests sierologici, che consentono la determinazione degli anticorpi anti-CMV, sono quelli più correntemente impiegati nella diagnostica dell'infezione citomegalica. Tra questi, quelli più comunemente usati sono i seguenti:

Test di fissazione del complemento (FC): è la prova sierologica di routine in quanto di semplice esecuzione e perché tutti i ceppi conosciuti di CMV hanno antigeni comuni in grado di evocare la risposta anticorpale svelabile con questo test. La metodica trova applicazione anche per lo screening di bambini con sospetta citomegalia. Infatti, normalmente, i bambini di età compresa tra i 6 mesi e 1 anno non possiedono anticorpi FC, se non sono stati trasmessi loro dalla madre, mentre la quasi totalità dei bambini di pari età, ma infettati, hanno anticorpi di tipo FC. Un singolo esame in FC perde progressivamente di significato con l'aumentare dell'età media della popolazione esaminata. Il valore diagnostico del test trova una ulteriore limitazione per l'assenza di anticorpi FC, che permangono per tutta la vita, in alcuni casi di citomegalia sicuramente documentata con l'isolamento del virus. Infine sono state documentate spontanee e ampie fluttuazioni del titolo di questi anticorpi in individui apparentemente sani e questa labilità deve essere tenuta presente nell'interpretazione dei risultati ottenuti. Gli anticorpi FC appartengono quasi esclusivamente alle immunoglobuline della classe IgG. Valori uguali o maggiori di 1:8 documentano la presenza di anticorpi anti-CMV.

Test di immunofluorescenza indiretta (IF): il metodo prevede l'impiego di sospensioni tripsinizzate di cellule infettate con il CMV oppure di colture laminari di fibroblasti umani infettati con il CMV. Si dispone cioè di cellule con inclusi antigenici nucleari e citoplasmatici. Se nel siero in esame esistono anticorpi specifici, essi si fisseranno sugli antigeni descritti e potranno essere evidenziati in fluorescenza con l'impiego di siero antigammaglobuline umane, marcato con fluoresceina, di tipo IgG o IgM. La fluorescenza citoplasmatica in assenza di fluorescenza nucleare è aspecifica. Per gli anticorpi di tipo IgG il titolo considerato positivo è uguale o superiore a 1:8 mentre per gli anticorpi di tipo IgM il titolo è positivo quando è uguale o superiore a 1:16. Nel neonato, la ricerca degli anticorpi specifici di tipo IgM, condotta con questa metodica, consente di stabilire, con un solo campione di siero, se l'infezione è recente. Nella vita postnatale il reperto ditali anticorpi in un solo campione di siero non è invece conclusivo di infezione acuta perché questi anticorpi spesso decrescono lentamente, nel corso di diversi mesi, dopo l'infezione. Il test può essere influenzato da reazioni crociate con altri agenti del gruppo herpes virus ma l'inconveniente si può eliminare se la diluizione del siero è di 1:8 - 1:16.

Test fluoroimmunologico (FIA): questo metodo consente la misura del complesso antigene-anticorpo e non è influenzato da reazioni secondarie legate alla presenza di altre componenti nel siero in esame. In questo test vengono impiegati traccianti fluorescenti e si hanno gli stessi vantaggi di un RIA eliminando i radioisotopi. Il metodo prevede l'impiego di opportuni sticks che presentano ad una estremità una superficie ad alta capacità idrofobica su cui sono adsorbiti gli antigeni specifici in grado di reagire con gli anticorpi anti-CMV, della classe IgG, eventualmente presenti nel siero in esame e, successivamente, con l'antisiero marcato con fluoresceina isotiocianato. Si ottiene in tal modo una reazione in fase solida che è semplice, sensibile e riproducibile. La fluorescenza che si sviluppa dalla reazione viene misurata con un fluorimetro. La sensibilità del metodo è di 0.6 pg.

Test di neutralizzazione (N): individua anticorpi di tipo IgG e IgM ma è piuttosto indaginoso per cui, in genere, non viene impiegato nella pratica routinaria.

Test immunoenzimatico indiretto: l'antigene viene legato, in concentrazione ottimale, su piastre o palline di polistirolo. I sieri in esame vengono incubati e gli antigeni legano gli anticorpi eventualmente presenti nel siero in esame. Dopo lavaggi successivi si aggiunge un antisiero anti-IgG e anti-IgM umane coniugato con l'enzima ottenendo in tal modo un ulteriore legame specifico. Si allontana con lavaggio l'eccesso di coniugato e l'aggiunta di un substrato mette in evidenza la reazione per lo sviluppo di una colorazione. Il

test è specifico e riproducibile, non è influenzato dalle proprietà anticomplementari del siero né da sostanze inibitorie aspecifiche ma risente di forti interferenze per la presenza del fattore reumatoide IgM, di fattori antinucleari e di alte concentrazioni di IgG anti-CMV. La metodica riferita costituisce un'alternativa a tutti gli altri tests esistenti per la determinazione degli anticorpi anti-CMV. Attualmente questo test viene impiegato anche negli studi epidemiologici e sta sostituendo la reazione in FC perché più affidabile, ripetibile e di più rapida esecuzione. Un singolo esame sierologico non è sufficiente per stabilire con certezza la diagnosi di infezione acuta da CMV ma è necessario a tal fine un controllo senato dei titoli anticorpali in quanto solo un significativo aumento di essi (almeno di 2-3 volte) è indicativo di infezione acuta da CMV. E' infatti noto che esistono casi in cui le IgM rimangono evidenziabili per lungo tempo, probabilmente per persistenza di stimolo antigenico.

Test immunoenzimatico diretto: in questo metodo vengono impiegati anticorpi anti-IgM, insolubilizzati in fase solida, ed antigene virale purificato e marcato con la perossidasi come tracciante. Le IgM eventualmente contenute nel campione di siero in esame reagiscono con gli anticorpi anti-IgM fissati in fase solida. La reazione viene evidenziata dall'aggiunta di antigene CMV legato alla perossidasi. La quantità di complesso CMV-perossidasi e quindi di attività enzimatica rilevabile in fase solida è direttamente proporzionale alla concentrazione di IgM anti -CMV presente nel campione in esame.

CONTROLLO DELLA GRAVIDA E DEL NEONATO — In gravidanza, quando si rileva la presenza nel siero di anticorpi anti-CMV della classe IgG e non sono presenti anticorpi di tipo IgM, è necessario controllare la stabilità del titolo anticorpale almeno una volta al mese per tutta la durata della gestazione. Nel rilievo di un aumento significativo del titolo anticorpale si procede nello studio diagnostico ricercando la presenza delle IgM specifiche. E' prudente seguire con studio cinetico, ad esempio con un controllo mensile, anche le gravide siero-negative al fine di evidenziare, al primo insorgere, l'eventuale infezione e, ove necessario, prontamente intervenire con i provvedimenti che il caso suggerirà come i più idonei. Nei neonati in cui si sospetta l'infezione congenita si controlleranno i livelli anticorpali delle IgG.

Quando la positività anticorpale persiste per oltre sei mesi dopo la nascita significa che l'infezione è avvenuta durante la vita intrauterina o in periodo perinatale perché gli anticorpi di origine materna sono rilevabili per non più di quattro mesi, mentre quelli prodotti dal neonato in risposta all'infezione rimangono evidenziabili per tutta la vita. E' evidente comunque che i test di maggiore affidabilità per la diagnosi di infezione congenita sono quelli dell'immunofluorescenza e dell'immunoenzimatica per le IgM specifiche.

Infatti, nell'infezione congenita, il reperto di questi anticorpi si correla, in genere, allo stato d'infezione in fase acuta. Al contrario l'assenza di queste macroglobuline rende poco probabile la diagnosi di citomegalia congenita anche se sono noti casi di neonati affetti dalla malattia ma privi di anticorpi specifici di tipo IgM. Anche la maggior parte dei neonati che eliminano il virus, ma che sono asintomatici, non presentano anticorpi specifici di tipo IgM. Non è noto se questi neonati siano esposti o meno al rischio delle sequele della citomegalia.

Terapia — La chemioterapia antivirale non ha una grande efficacia in questa malattia. Sono stati impiegati farmaci come la desossiuridina che possiede un'azione inibente sugli enzimi deputati alla sintesi del DNA virale, la citosina-arabinoside che inibisce enzimi deputati alla sintesi del DNA e dell'RNA, l'acido porfonoacetico che blocca la DNA -polimerasi indotta dal virus senza agire sulla DNA-polimerasi cellulare.

Farmaci che possiedono azione di stimolo sulle difese umorali e cellulari sono l'isopninosina e la timostimolina sulla cui efficacia in questa malattia non è possibile esprimere un giudizio definitivo. La terapia sintomatica della citomegalia grave si avvale di emotrasfusioni, di cortisonici e di quanto altro si pensi utile per combattere la trombocitopenia e l'anemia. L'impiego di gamma-globuline sembra superfluo perché in molti soggetti sono già presenti anticorpi specifici ad alto titolo. Questo tipo di terapia può essere invece utile in soggetti con ipo-gammaglobulinemia o in pazienti sottoposti a trattamento con farmaci immunosoppressori e nei quali si sia manifestata la citomegalia. L'exanguinotrasfusione si può rendere necessaria in quei neonati con infezione acuta quando la bilirubinemia raggiunge alti valori.

Profilassi — I neonati con citomegalia congenita devono essere considerati potenzialmente pericolosi per donne in gravidanza ma, a parte generiche misure di isolamento, non esistono sicuri mezzi di prevenzione. Quest'ultima si fonda, almeno per il momento, sul miglioramento delle condizioni igieniche che determina una forte riduzione del contagio nei primi mesi di vita e in gravidanza. Per quanto riguarda la vaccinazione sono necessarie ulteriori valutazioni sul potere oncogeno dei CMV e sulle complesse interazioni che si instaurano tra madre e feto prima che sia lecito giungere all'impiego estensivo di un vaccino capace di conferire protezione nei confronti di questo virus. Un vaccino con CMV vivo ma attenuato è stato preparato e somministrato a volontari nei quali è comparsa una risposta anticorpale specifica. Nonostante questo, per le motivazioni sopra esposte, l'impiego principale di questo vaccino è attualmente limitato all'immunizzazione di candidati a trapianto d'organo.

Herpes simplex

Definizione — Il virus dell'herpes simplex è responsabile di una affezione infettiva acuta, spesso febbrile e recidivante, che si manifesta con quadri clinici diversi che vanno da forme lievi e localizzate a forme gravi, disseminate e qualche volta fatali.

Etiologia — Il virus dell'herpes simplex, il citomegalovirus, il virus varicella-zooster e il virus di Epstein-Barr appartengono al gruppo degli herpes virus. Dell'herpes simplex sono noti due differenti sierotipi che possiedono antigeni comuni e antigeni specifici:

— HSV-l, in genere responsabile delle forme oculari e orolabiali;
— HSV-2, più raro, si localizza frequentemente a livello dell'apparato genitale maschile e femminile.

Entrambi i tipi di virus possono essere responsabili di infezioni connatali.

La particella virale, del diametro di 180 nm. è costituita da un "core" di DNA avvolto in una capside proteica, costituita da 162 capsomeri, circondata da un involucro fosfolipidico. Dopo l'infezione il DNA virale penetra nel nucleo delle cellule suscettibili dove viene sintetizzato nuovo DNA mentre la parte proteica del virus, prodotta nel citoplasma, migra poi verso il nucleo. Il virione completo ha un triplice rivestimento di cui la parte più interna è prodotta dentro il nucleo mentre le altre derivano da evaginazioni di membrane nucleari e citoplasmatiche. In questo caso il virus è "rivestito " ma esistono anche particelle virali senza involucro, dette "nude", anche esse dotate di capacità infettante.

I topi, i ratti, le cavie e i conigli sono animali suscettibili di infezione. Sulla membrana corionallantoidea dell'uovo embrionato e infettato, le lesioni si evidenziano dopo uno-due giorni per raggiungere la massima espressività in terza-quarta giornata. Esse sono rappresentate da placchette bianche e rilevate il cui numero è direttamente proporzionale alla concentrazione delle particelle virali.

Il virus si sviluppa bene anche in colture tessutali ove provoca, entro tre giorni dall'inoculazione, effetto citopatico con la comparsa dei tipici inclusi di Lipschutz o di Cowdry cui segue la necrosi cellulare. Inizialmente gli inclusi sono Feulgen positivi (si colorano in blu con l'ematossilina-eosina) e occupano i nuclei per intero comprimendo la cromatina verso la membrana nucleare. Successivamente gli inclusi divengono Feulgen negativi (si colorano in rosa con l'ematossilina-eosina) e sono separati dalla cromatina nucleare da un alone chiaro. L'antigene virale è presente nel nucleo solo all'inizio dell'infezione e non è più rilevabile quando l'incluso nucleare è pienamente sviluppato.

Nell'uomo questo virus si moltiplica in molti tessuti e anche nei linfociti e, probabilmente in relazione alla sua sede intracellulare, è in grado di sfuggire all'azione degli anticorpi specifici.

Epidemiologia — L'infezione da virus dell'herpes simplex è endemica; l'agente etiologico, pur dotato di un notevole potere infettante, provoca di rado una malattia conclamata che può assumere un andamento grave in soggetti non immuni o con caduta dei poteri immunitari.

La trasmissione dell'infezione avviene per contatto diretto o indiretto e, negli adulti, anche per via sessuale.

La contagiosità permane per tutto il periodo della malattia o per tutta la vita nel caso di portatori sani che eliminano il virus con la saliva, le feci e le urine.

In gravidanza il virus può infettare il feto per via ematogena transplacentare, per via ascendente oppure durante il passaggio del nascituro attraverso un canale genitale infetto.

INFEZIONE PRIMARIA — Si instaura in soggetti privi di anticorpi specifici e in genere decorre in modo inapparente. Talvolta può invece causare, a seconda del tipo virale in causa, herpes labialis, gengivostomatite acuta, rinite, sindrome pluriorifiziale, cheratocongiuntivite, meningoencefalite, vulvovaginite, cervicite, uretrite, infezione dell'asta e del glande, infezione disseminata. Nel corso della prima infezione è presente viremia e il titolo degli anticorpi specifici sale progressivamente.

REINFEZIONE ENDOGENA — Colpisce soggetti che possiedono già anticorpi specifici circolanti, assume spesso carattere ricorrente. Questa forma rappresenta probabilmente l'attivazione del virus latente nei gangli nervosi da dove potrebbe periodicamente raggiungere le mucose o la cute percorrendo le fibre nervose. Fattori associati alle reinfezioni endogene includono lo stress emozionale, traumi psichici, esposizione alla luce solare, febbre, mestruazioni, infezioni respiratorie e malattie dell'apparato digerente. Nella reinfezione non c'è viremia e gli anticorpi specifici sono presenti ad alto titolo fino dall'esordio della manifestazione clinica.

REINFEZIONE ESOGENA — E' sostenuta da ceppi virali eterogenei, rispetto alla infezione primaria, provenienti da una fonte esogena. Le lesioni occupano sedi differenti da quelle abitualmente colpite in corso di reinfezione endogena. Sotto il profilo immunologico è come se fossero delle prime infezioni.

INFEZIONI CONTEMPORANEE — Sostenute dal virus herpetico di tipo 1 e 2 con lesioni localizzate in sedi corporee diverse.

QUADRI CLINICI

Generalmente la prima infezione erpetica è asintomatica ma a volte la malattia può assumere aspetti diversi:

Herpes labialis: si tratta della forma più frequente. di entità clinica modesta, insorgente spesso in concomitanza di fattori "scatenanti" organici o funzionali. Il decorso è breve ma l'affezione può recidivare.

Gengivostomatite: detta anche stomatite aftosa, colpisce prevalentemente bambini piccoli, ha esordio febbrile ed è caratterizzata dalla comparsa di vescicole in sede orale con tendenza alla trasformazione in piccole afte. La malattia risolve, di norma favorevolmente, entro due-tre settimane. L'HSV-1 potrebbe essere responsabile, almeno in alcuni casi, di ulcere duodenali ricorrenti in pazienti con normale secrezione acida gastrica. L'evento che scatena la recidiva sarebbe la riattivazione di un virus latente presente nel ganglio del vago con lesione mucosa da cui si genera l'ulcera.

Cheratocongiuntivite: caratterizzata da iperemia congiuntivale e da lesioni corneali. La sindrome di Parinaud è caratterizzata da congiuntivite membranosa monolaterale e da edema doloroso del linfonodo preauricolare. Solitamente il decorso è favorevole e la guarigione con restitutio ad integrum avviene in due-tre settimane.

Meningoencefalite: con il quadro della meningite asettica benigna o della grave encefalite, indistinguibili, sul piano clinico, dalle altre nevrassiti virali.

Infezione disseminata: questa gravissima forma si riscontra quasi esclusivamente come conseguenza della malattia erpetica connatale o perinatale. Si ha compromissione delle condizioni generali per impegno di vari organi ed apparati e morte per collasso cardiocircolatorio.

Eczema erpetico: grave infezione erpetica che si verifica su zone di cute colpite da eczema in lattanti e bambini. L'insorgenza è acutissima con unica o successive gittate sia sulle zone sane della cute che su quelle affette da eczema. Le condizioni generali sono spesso assai compromesse e il decorso è severo.

Herpes genitale: caratterizzato dalla comparsa delle tipiche vescicole erpetiche a livello dello scroto, del prepuzio, del solco balano-prepuziale del glande, della vulva, della vagina, della portio, del perineo. Sulla portio e in vagina di solito le lesioni assumono l'aspetto di piccole ulcere superficiali o si configurano nel quadro di una cervicovaginite aspecifica. Comuni anche

le infezioni paucisintomatiche o asintomatiche. E' descritta una associazione epidemiologica tra herpes simplex tipo 2 e neoplasie della cervice uterina. Esiste cioè una forte correlazione tra la presenza di anticorpi contro l'HSV e il cancro cervicale.

L'herpes genitale femminile può infine essere responsabile di infezione del neonato durante il parto.

Le recidive dell'infezione erpetica possono assumere le stesse caratteristiche dell'infezione primaria oppure decorrere con un minore corredo flogistico e con scarsa o assente sintomatologia generale.

Malattia erpetica connatale: pur potendo essere sostenuta da entrambi i tipi di virus, nella grande maggioranza dei casi riconosce come agente etiologico il tipo 2. L'infezione fetale, per via trasplacentare in gravide non immuni, può esitare in aborto, morte fetale intrauterina, fetopatia caratterizzata da lesioni nervose, viscerali e cutanee. Tuttavia le localizzazioni e la gravità della malattia nel neonato sono varie andando dalle forme diffuse a prognosi infausta alle forme oligo-asintomatiche. L'infezione contratta dal neonato durante il passaggio attraverso il canale del parto è più frequente dell'infezione acquisita per via transplacentare e può presentare i medesimi caratteri clinici di quest'ultima. Il rischio maggiore per il nascituro è sostenuto dalle infezioni genitali materne che esordiscono pochi giorni prima del parto anche perché a volte decorrono in maniera silente.

Il rischio che il neonato si infetti durante il passaggio nel canale da parto varia in relazione alla quantità e virulenza del virus presente nonché alla durata del contatto tra neonato e lesioni materne.

Immunologia — Nell'infezione primaria gli anticorpi IgM contro l'HSV compaiono entro una settimana dall'inizio della malattia, raggiungono un titolo massimo verso la seconda-terza settimana e persistono per otto-ventiquattro settimane. Il reperimento di questi anticorpi è possibile anche in corso di infezioni recidivanti purché si tratti di meningoencefaliti o di eczema erpetico. Nelle forme recidivanti oro-facciali o genitali non sono invece evidenziabili per cui si può concludere che essi sono tipici delle infezioni primarie e non si trovano nelle recidive. Una decina di giorni dopo l'infezione compaiono gli anticorpi di tipo IgG e il loro incremento corrisponde al decremento degli anticorpi IgM.

Gli anticorpi della classe IgG rimangono evidenziabili anche per anni. La riattivazione della infezione evoca talora aumenti variabili del titolo degli anticorpi della classe IgG mentre altre volte il titolo anticorpale non subisce incrementi.

Diagnosi — Per la diagnosi di infezione di herpes simplex soccorreranno i reperti clinici e le indagini di laboratorio.

Indagini virologiche:

a) Ricerca del virus in lesioni aperte cutanee e mucose. Nell'infezione primaria esso può essere reperito nel faringe per due-tre settimane. Poiché è possibile isolare questo virus dal faringe di portatori sani, la prova non è sufficiente per comprovare che esso è l'agente etiologico della malattia in esame. Nelle feci il virus non si trova perché l'acidità gastrica è sufficiente per inattivarlo. Se presente può derivare da lesione erpetica anale o da una vulvovaginite usualmente sostenute dal tipo 2. Quest'ultimo può essere isolato dalle urine in caso di cistite o di infezione genitale. Il virus è stato di rado isolato dal sangue anche nei casi che presentavano una infezione generalizzata. Tanto il tipo 1 che il tipo 2 di virus raramente sono isolabili dal liquor di pazienti con meningite asettica da herpes simplex;
b) Cellule prelevate dal fondo di sospette lesioni erpetiche, strisciate e fissate su di un vetrino, possono essere colorate con il metodo di Wright o di Giemsa. Aspetti sinciziali o cellule con il citoplasma rigonfio si ritrovano tanto nelle lesioni erpetiche sostenute dal tipo 1 quanto in quelle determinate dal tipo 2. Il metodo non riesce quindi a discriminare qual'è l'agente etiologico in causa. Anche gli inclusi intranucleari di Cowdry possono essere presenti nelle due condizioni e inoltre essi non si ritrovano invariabilmente nei tessuti infettati. La presenza di una localizzazione genitale di herpes simplex determina, nello striscio vaginale, la comparsa di cellule multinucleate epiteliali e di cellule con inclusi intranucleari eosinofili;
c) Metodo dell'immunofluorescenza diretta, rapido e definitivo. Si impiegano cellule ottenute da sospette lesioni erpetiche fissate in acetone e poste in contatto con anticorpi antiherpes simplex marcati con fluoresceina. La lettura della fluorescenza viene effettuata al microscopio a luce ultravioletta;
d) Ricerca al microscopio elettronico delle particelle virali eventualmente presenti nel liquido di sospette vescicole erpetiche. Il metodo non riesce a discriminare però tra particelle di herpes simplex e di varicella zooster;
e) Isolamento del virus dopo inoculazione del materiale in esame, opportunamente trattato, in colture di tessuti (es. fibroblasti umani), nella membrana corionallatoidea di embrione di pollo, nella cornea di coniglio. La comparsa rispettivamente di inclusi intranucleari tipici, di placche e di opacità suggerisce la presenza del virus erpetico nel materiale studiato. L'identificazione dell'agente come virus erpetico richiede l'impiego di antisieri specifici nelle prove di neutralizzazione e di immunofluorescenza.

Tecniche sierologiche:

a) Reazione di fissazione del complemento (FC): si esegue secondo la tecnica di Kolmer che prevede l'incubazione a freddo del sistema antigene anticorpo per tutta la notte. Se nel siero in esame sono presenti anticorpi anti-herpes essi reagiscono con l'antigene e il sistema antigene anticorpo fissa il complemento presente. Viene quindi aggiunta una miscela di GR sensibilizzati con l'ambocettore (emolisina) i quali, in presenza di anticorpi anti-herpes nel sistema, non trovano complemento disponibile e non vanno incontro ad emolisi.
   Il test fornisce un facile metodo per la ricerca degli anticorpi anti-herpes pur non essendo in grado di differenziare quelli evocati dal tipo 1 o 2 del virus. Questo test deve essere eseguito almeno su due sieri di cui il primo prelevato appena possibile in corso di infezione e il secondo dopo una-due settimane. Per la diagnosi di infezione in atto è necessario che il titolo anticorpale del secondo campione sia superiore a quello del primo di almeno quattro volte.
   La soglia di sensibilità del metodo è per diluizioni sieriche maggiori o uguali a 1:8.
b) Test di neutralizzazione (N): è caratterizzato da una certa difficoltà tecnica esecutiva. Titoli efficaci di anticorpi N sono dati da quelle diluizioni sieriche in grado di prevenire l'effetto citopatico da herpes simplex su colture cellulari per quattro-cinque giorni dopo che tali effetti sono stati prodotti dallo stesso virus in colture che non contengono anticorpi specifici. La metodica non consente di distinguere tra infezione sostenuta dal tipo 1 o dal tipo 2 del virus.
c) Test di immunofluorescenza indiretta per le IgG e le IgM (IF): è un metodo sensibile e specifico che prevede l'impiego di cellule di mammiferi coltivate in vitro e infettate con l'HSV-1 o l'HSV-2.
   L'infezione da HSV determina sulle cellule infettate la comparsa di un recettore per la frazione Fo delle immunoglobuline IgG. Il blocco di questo recettore, non correlato con la presenza o l'assenza di anticorpi specifici per l'HSV, garantisce nei confronti di reazioni falsamente positive. Il test è in grado di discriminare fra anticorpi anti-erpetici da virus 1 e 2 perché il substrato, fissato su vetrino, può contenere cellule di mammiferi infettate con il tipo 1 o 2 del virus. Il metodo prevede inoltre l'impiego di immunoglobuline anti-IgG e anti-IgM. Il test è positivo quando si evidenzia fluorescenza nel nucleo o nel citoplasma delle cellule infettate. Cellule non infettate, frammiste alle altre, fungono da controllo negativo nel preparato.
d) Test di immunofluorescenza diretta: in questa metodica vengono utilizzati anticorpi monoclonali, specifici per il virus herpes simplex tipo 1 o 2, marcati con isotiocianato di fluoresceina. Il test è in correlazione perfetta

con la reazione di neutralizzazione. La reazione di immunofluorescenza diretta viene eseguita dopo isolamento del virus su colture di cellule umane diploidi (MRC-5). Il test permette di discriminare fra infezione sostenuta dall'herpes di tipo 1 o 2.

e) Test di immunofluorescenza (FIA): con questo test, già descritto, è possibile svelare la presenza, nel siero in esame, di anticorpi antierpetici della classe IgG e IgM.

f) Test immunoenzimatico per le IgG e le IgM (ELISA): la metodica, già descritta a proposito della diagnosi della malattia citomegalica, si basa sul principio dell'immunoenzimatica in fase solida per svelare gli anticorpi anti-HSV. La presenza di anticorpi di tipo IgG o IgM è rilevata dallo sviluppo di una colorazione che viene misurata allo spettrofotometro. Il colore non si evidenzia in assenza di anticorpi.

Poiché l'infezione perinatale da herpes simplex rappresenta un problema medico e sociale di notevole importanza è indicato un accurato studio clinico-sierologico della popolazione femminile in epoca preconcezionale per valutarne lo stato immunitario nei confronti del virus in causa.

Come tests di screening possono essere impiegati l'PC, l'IF o l'ELISA.

Con tali metodi si possono documentare diverse eventualità:

— donne senza anticorpi anti-herpes simplex: in gravidanza sarà effettuato uno studio sierologico una volta al mese. Se la sierologia rimane negativa per tutto l'arco della gravidanza non esiste alcun problema. Se, invece, durante questi controlli si assiste ad una chiara sieroconversione, siamo in presenza di infezione contratta in corso di gravidanza con possibilità di fetopatia. In questo caso il comportamento futuro dovrà essere valutato caso per caso tenendo presente che il parto cesareo, come misura profilattica di malattia connatale, non serve in quanto, se infezione fetale c'è stata, essa è avvenuta per via transplacentale;

— donne con anticorpi anti-herpes simplex: si eseguirà un monitoraggio sierologico in caso di successiva gravidanza allo scopo di evidenziare eventuali recidive o reinfezioni. La recidiva sarà svelata da un aumento significativo degli anticorpi nel test FC mentre il test IF o ELISA per le IgM specifiche risulterà negativo. In caso di reinfezione si avrà aumento degli anticorpi nel test FC associato a positività del test IF o ELISA per le IgM. Documentare la comparsa di una recidiva di herpes genitale può essere determinante per la profilassi della fetopatia poiché, in questo caso, il parto deve avvenire per via addominale.

CONTROLLO DELLA GRAVIDA E DEL NEONATO — La più efficace profilassi nei confronti della malattia connatale da herpes simplex riposa sul monitoraggio clinico-sierologico delle donne in gravidanza.

Il controllo sarà tanto più efficace quanto più accuratamente verrà eseguito e di particolare affidabilità quando ad esso sia stato possibile far precedere uno studio sierologico in epoca preconcezionale allo scopo di valutare lo stato immunitario delle future madri.

Quando lo screening preconcezionale non è stato eseguito e capita di dover studiare una donna gravida con titoli anticorpali positivi in FC, occorrerà effettuare la ricerca degli anticorpi di tipo IgM che compaiono in corso di prima-infezione e di reinfezione esogena. Se questa ricerca dà esito positivo siamo in presenza di una infezione recente con viremia e possibilità di fetopatia. Per stabilire infine se l'infezione in oggetto è più o meno recente è utile seguire l'evoluzione del titolo delle IgM specifiche per avere una indicazione di massima sulla data della pregressa infezione. Se al contrario il test per le IgM è negativo occorrerà procedere ad un controllo sierologico del soggetto in esame dopo una-due settimane eseguendo inoltre il test in parallelo con il primo campione di siero. Si eseguirà anche una curva di titoli per gli anticorpi di tipo IgG il cui eventuale incremento, in assenza di IgM, testimonia la comparsa di una recidiva che decorre senza viremia ma che impone la necessità di ben seguire la gravida per il rischio che la recidiva sia avvenuta a livello del canale da parto.

In questo caso uno studio diagnostico completo sarà ripetuto alla fine del terzo trimestre di gestazione per determinare l'eventuale presenza di una infezione attiva a livello dei genitali. L'esame clinico potrà essere completato con indagine virologica o, in mancanza, con esame colpocitologico. Ove necessario, l'amniocentesi servirà per escludere l'avvenuta trasmissione transplacentare dell'infezione. Il liquido amniotico potrà essere coltivato per la ricerca del virus e cellule di desquamazione fetale saranno studiate sotto il profilo citologico e colturale. Se si repertano segni di infezione intra-amniotica la modalità del parto non ha alcuna importanza mentre se il liquido amniotico non è infetto sarà eseguito un parto addominale quando il feto è maturo e il travaglio di parto imminente. E' necessario tuttavia che il parto cesareo avvenga prima che si rompano le membrane e ciò per preservare il neonato dal contagio. Se le membrane si rompono spontaneamente in una gravida con infezione erpetica dei genitali, il parto cesareo è ancora consigliabile purché l'intervallo di tempo intercorso tra la rottura e l'intervento operativo non superi le quattro-sei ore perché dopo questo intervallo il parto addominale non offre più vantaggi nella prevenzione dell'infezione fetale.

Dopo il parto di una donna con infezione erpetica dei genitali è necessario l'isolamento della madre e del neonato. Quest'ultimo sarà tenuto in osservazione per due settimane perché è in questo lasso di tempo che si

possono evidenziare le manifestazioni della malattia eventualmente contratta.

Terapia — La terapia dell'infezione materna e neonatale è sostanzialmente sintomatica. Nelle forme oculari e di gengivostomatite viene suggerito l'impiego della 5-iodio-2-desossiuridina (IDU) che ha la capacità di combinarsi con gli enzimi che il virus evoca nelle cellule ospiti inibendone l'azione e bloccando, seppure non totalmente, la sintesi del DNA. La soluzione acquosa di questo farmaco, da impiegare nelle forme sistemiche per somministrazione endovenosa, è ancora allo stato sperimentale. Il farmaco non può comunque essere somministrato, per via sistematica, in corso di gravidanza poiché risulta essere teratogeno nel topo. L'IDU è più tossico della adenina arabinoside (ARA-A) che è stata anch'essa impiegata sperimentalmente nell'infezione perinatale disseminata e nell'encefalite. Questo prodotto è in grado di prevenire l'effetto citopatico dell'HSV, del V-Z e del citomegalovirus in colture di tessuto. Esso è molto meno tossico per il midollo osseo dell'IDU e della citosina arabinoside. L'ARA-A è convertito, a livello intracellulare, a ipoxantina arabinoside che ha anch'essa proprietà antivirale, mentre i metaboliti dell'ARA-A e dell'IDU non la possiedono. Priva invece di effetti collaterali di rilievo risulta essere l'isoPrinosina che una recente letteratura considera efficace in molte infezioni virali. Essa sarebbe dotata di un effetto immunostimolante che si esplica soprattutto sui T linfociti e sulla liberazione di linfochine.

Esistono dati sperimentali comprovanti che questo farmaco è in grado di potenziare, nell'animale, la produzione di IgG e di IgM, di ripristinare la normale risposta linfocitaria alla Con-A negli animali infettati con virus influenzale, di aumentare le attività antivirali dell'interferon, di incrementare le capacità "killing" dei macrofagi se iniettata contemporaneamente al "Corynebacterium parvum ". Il dosaggio è di 70-100 mg/Kg/die sia per gli adulti che per i bambini; l'intervallo tra una somministrazione e l'altra non deve superare le quattro ore; la durata del trattamento va da 5 a 15 gg.

Più recentemente, per potenziare i meccanismi della difesa immunitaria, è stato proposto e sperimentato l'impiego degli ormoni timici (timostimolina). Nel caso di infezione da herpes, virus a diffusione endocellulare, la difesa antivirale è cellulo-mediata, con l'intervento dell'interferon. Il meccanismo d'azione della timostimolina si verificherebbe a livello della produzione dell'interferon, sull'attivazione delle cellule killer naturali, sui linfociti T e sui T-helper. Questi ultimi, tramite la produzione di linfochine, scatenerebbero l'aggressione delle cellule killer naturali e dei monociti contro le cellule infettate dal virus. Quindi l'azione esercitata dai linfociti T si esplicherebbe sia con meccanismo citotossico diretto sia tramite la liberazione di linfochine; le cellule killer naturali esercitano azione citotossica diretta; l'interferon, proteina solubile sintetizzata dalle cellule invase dal virus, indur-

rebbe la sintesi di una sostanza capace, legandosi ai ribosomi, di impedire il trasferimento dell'RNA-messaggero virale e così la proliferazione virale medesima. Attualmente la terapia con timostimolina riveste anche un ruolo profilattico in donne affette da herpes simplex recidivante dei genitali. In questi casi la dose è di 1 mg/Kg/die per 2 settimane e poi, alla stessa dose, un giorno alla settimana per un anno.

Di recente è stato comunicato che è possibile combattere il virus erpetico con la aciclogua nosina, Acyclovir, che riesce a penetrare selettivamente nelle cellule infettate e risulta un potente inibitore dell'erpes simplex di tipo 1 e 2. In seguito ad una serie di reazioni intracellulari, la molecola in questione è incorporata alla fine della catena del DNA virale e conduce a morte il virus lasciando intatta la cellula ospite.

Profilassi — Evitare il contatto tra individui affetti da eczema, o altre estese lesioni cutanee, e portatori di lesioni erpetiche cutanee e muccose. Le immunoglobuline possono essere usate nel tentativo di ridurre il rischio di contagio nel neonato o di disseminazione nell'eczema erpetico.

Vaccini per la prevenzione delle recidive non sembrano efficaci e non è ancora sicuro se siano del tutto innocui.

Un nuovo farmaco è stato impiegato recentemente nella profilassi delle infezioni da HSV e cioè l'Acyclovir in soggetti sottoposti a trapianto di midollo osseo. La dose impiegata è stata 250 mg/m^2 ogni 8 ore per e.v. Data l'assenza di effetti collaterali il farmaco troverà probabilmente impiego quale profilattico nei soggetti esposti a rischio come riceventi di qualsiasi trapianto e in pazienti sottoposti a terapie antiblastiche.

ROSOLIA

Definizione — La rosolia è una malattia esantematica maculopapulosa, ad etiologia virale, che evoca nell'ospite una risposta immune duratura.

Etiologia — Il virus della rosolia appartiene al gruppo dei Toga-virus ad RNA, di forma sferica, che ha un diametro di circa 60 nm, simmetria icosaedrica e un core circondato da un doppio rivestimento lipoproteico. Il virus si replica nel citoplasma e nelle membrane perinucleari delle cellule ospiti senza provocare in esse effetti citopatici. In alcuni tipi di cellule determina un fenomeno di interferenza sulla moltiplicazione di altri virus. L'agente etiologico della rosolia è stato isolato dai secreti rinofaringei, ove è reperibile già sette giorni dopo il contagio, e dal sangue, dove si trova durante la fase esantematica ma anche alcuni giorni prima che la malattia si manifesti.

Epidemiologia — Il contagio è interumano e avviene in genere per via respiratoria, mediante l'inalazione di goccioline di saliva infette, oppure attraverso la congiuntiva. La contagiosità è massima nel periodo prodromico ed esantematico per regredire a poco a poco nelle due settimane successive alla scomparsa dell'esantema. La malattia è endemica e colpisce soprattutto bambini e giovani adulti manifestandosi ad ondate epidemiche, particolarmente alla fine dell'inverno e al principio della primavera. Il periodo di incubazione varia da 14 a 21 gg. Dapprima il virus si localizza nelle cellule del rinofaringe e nei linfonodi cervicali, successivamente diffonde nel sangue e si localizza nelle cute e nelle varie stazioni linfoghiandolari, particolarmente in quelle satelliti, evocando una reazione linfoadenitica. La fase viremica inizia 6-7 gg. prima della comparsa dell'esantema e cessa con la scomparsa dello stesso, in concomitanza con la formazione di anticorpi specifici di tipo neutralizzante (N) ed emoagglutinoinibente (EAI), mentre gli anticorpi fissanti il complemento (FC) compaiono due settimane dopo gli EAI.

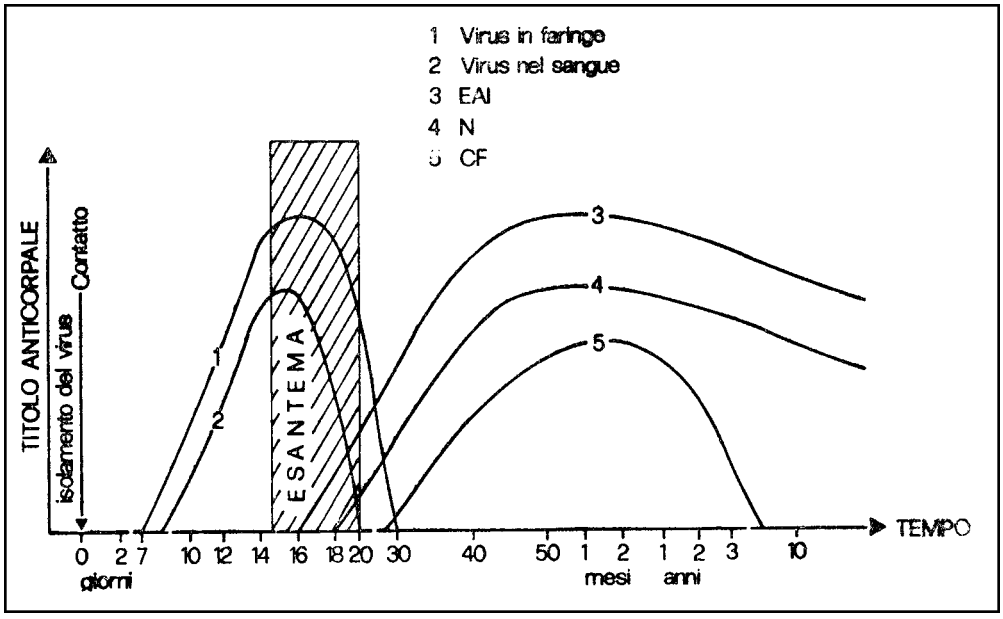
Durante la viremia il virus può essere isolato anche dalle urine, dalle feci, dalla congiuntiva e dalle secrezioni del collo uterino. La malattia è discretamente diffusiva per cui l'80 % della popolazione femminile in età feconda risulta immunizzata in modo naturale nei confronti dell'infezione e il rischio di embriopatia rubeolica è così già di per sè ridotto.

QUADRI CLINICI

Forma acquisita tipica: la sintomatologia è spesso modesta. Nella sua piena espressione la malattia è caratterizzata da febbre, in genere non elevata, lieve congiuntivite e rinite, enantema palatale e faringeo, modesta linfoade-

nomegalia dolorabile a sede nucale, retroauricolare, laterocervicale, più raramente ascellare e inguinale. Di solito non c'è splenomegalia e l'interessamento linfoghiandolare precede quasi sempre l'esantema. Questo è di tipo maculopapuloso, di colore rosso, simile a quello del morbillo, spesso meno vistoso. Compare prima al volto; in corrispondenza della radice dei capelli, intorno alla bocca e dietro le orecchie e poi evolve in senso cranio-caudale in modo rapido tanto che, generalmente, in 24 ore l'intera superficie corporea risulta coperta.

Dopo 4-5 gg. scompare senza lasciare né pigmentazione né desquamazione. Raramente si hanno manifestazioni purpuriche o emorragiche nel periodo esantematico o poco dopo, per piastrinopenia di genesi autoimmune o secondaria a ridotta produzione midollare. I linfonodi possono rimanere palpabili per lungo tempo. Nel 50~60o/o dei casi l'infezione decorre senza esantema e, a volte, anche senza adenopatia.



Il decorso della malattia è benigno e le complicanze mancano quasi del tutto. L'impegno articolare flogistico acuto è la complicanza più comune nell'adulto, particolarmente nelle giovani donne, e si manifesta con l'interessamento delle piccole articolazioni del polso, delle dita e delle articolazioni delle ginocchia, talvolta con tenosinoviti associate, mialgie, sintomi di neurite periferica. Queste manifestazioni compaiono contemporaneamente all'esantema o poco dopo. In questi casi il virus è isolabile dal

liquido sinoviale. La guarigione avviene in poche settimane. Rarissime complicanze sono la broncopolmonite e l'encefalite: quest'ultima si associa però ad elevata mortalità.

Forme subcliniche: probabilmente numerose, decorrono in modo paucisintomatico, senza la presenza dell'esantema, per cui rendono particolarmente difficile la valutazione anamnestica di precedenti infezioni da rosolia. D'altra parte anche i segni clinici dell'infezione non sono sempre così specifici da consentire da soli, in assenza di dati epidemiologici, una sicura diagnosi.

Forma congenita: come avviene per altre malattie infettive, anche la rosolia può essere trasmessa dalla gestante al feto realizzandosi la possibilità di embriopatie in un numero non trascurabile di casi, particolarmente se l'infezione viene contratta nel primo trimestre di gravidanza durante il quale si ha la differenziazione dei vari apparati fetali.

Non sono invece segnalati molti casi di danno fetale quando la madre viene colpita da rosolia dopo il quarto mese di gravidanza. Il rischio di malattia nel feto è massimo nel primo mese per decrescere progressivamente e cospicuamente durante il secondo e il terzo mese di gravidanza. Infatti dopo il primo trimestre è molto raro che la rosolia contrattata dalla gestante determini la morte o difetti nel feto. Le cause di questo particolare comportamento non sono completamente note ma potrebbero avere importanza le seguenti possibilità:

— variazione immunologica materna dai primi agli ultimi mesi di gravidanza;
— modificazioni cellulari placentali che si oppongono al passaggio del virus;
— variazione immunologica fetale.

Quali che siano le ragioni è un fatto che, se la donna si ammala di rosolia nel terzo trimestre di gravidanza, il prodotto del concepimento viene infettato nel 70~90 % dei casi. Infezione non è sempre sinonimo di malattia e infatti il 30% di questi feti nasce poi a termine e senza alcun problema mentre, dei rimanenti, una metà viene abortita e l'altra metà presenta, alla nascita, i segni della rubeola connatale. Dopo l'infezione il virus sì localizza nella placenta determinando rottura di cellule endoteliali e lesioni vascolari multifocali. Successivamente il feto viene invaso da particelle virali libere o conglobate in emboli provenienti da focolai necrotici placentari. Il meccanismo teratogeno del virus rubeolico non è legato ad effetto citopatico ma alla sua capacità di causare infezioni croniche dando origine a doni cellulari che, dividendosi più lentamente del normale o differenziandosi irregolarmente, alterano il regolare sviluppo di organi od apparati. Dal combinarsi di

questi effetti deriva l'embriopatia rubeolica che, in genere, risulta tanto più grave quanto più precocemente si è verificata l'infezione. I difetti congeniti osservabili nella malattia connatale sono vari:

— microftalmia, cataratta, lesioni dell'iride, retinite pigmentosa, uveite. glaucoma, strabismo;
— sordità congenita percettiva, sordomutismo;
— vizi cardiaci congeniti come pervietà del dotto arterioso di Botallo, difetti settali atriali o ventricolari, stenosi dell'arteria polmonare, coartazione e stenosi aortica, fibroplasia intimale;
— microcefalia, agenesia cerebrale, ritardo psichico, ipoevolutismo generalizzato, anomalie dentarie, alterazioni a carico della metafisi delle ossa lunghe caratterizzate da irregolare calcificazione, obliterazione dei dotti biliari, criptorchidismo, ipospadia;
— anemie, sindromi purpuriche.

La combinazione sintomatologica di cataratta, ipoacusia da lesioni dell'orecchio interno, difetti del setto cardiaco o pervietà del dotto di Botallo, configura la sindrome di Gregg.

Con una certa frequenza la sindrome della rosolia connatale è caratterizzata dall'associazione di ittero, epatosplenomegalia, alterazioni ossee, porpora trombicitopenica, anemia di tipo emolitico. In questi casi la sindrome ricorda quella secondaria ad infezione da Cytomegalovirus.

L'embriopatia è dovuta ad una vera infezione fetale e infatti il virus può essere isolato dagli organi sia del feto che del neonato per lunghi periodi dopo la nascita nonostante la presenza di anticorpi che, evidentemente, non impediscono la persistenza del virus.

Anche quando non si verifica una vera e propria embriopatia malformativa, il virus che ha raggiunto il prodotto del concepimento nel corso del primo trimestre di gravidanza può permanere in esso, in forma attiva, fino alla nascita e anche per qualche tempo dopo, realizzandosi la cosiddetta fetopatia rubeolica. Questa ha i caratteri di una infezione cronica evolutiva ed è caratterizzata da ritardo di sviluppo, alterazioni ossee, ematologiche e viscerali (epatiche, miocardiche, polmonari) che possono presentarsi sia isolate che variamente associate. In molti casi la fetopatia rubeolica si manifesta soltanto con un ritardato accrescimento intrauterino, dopo la nascita, con un ritardato sviluppo psicosomatico.

Oltre all'embriopatia e alla fetopatia, la rosolia contratta dalla madre durante il primo trimestre di gestazione può determinare l'aborto mentre, nei successivi trimestri, può portare, anche se raramente, a morte fetale o alla nascita di un neonato con disturbi neurologici.

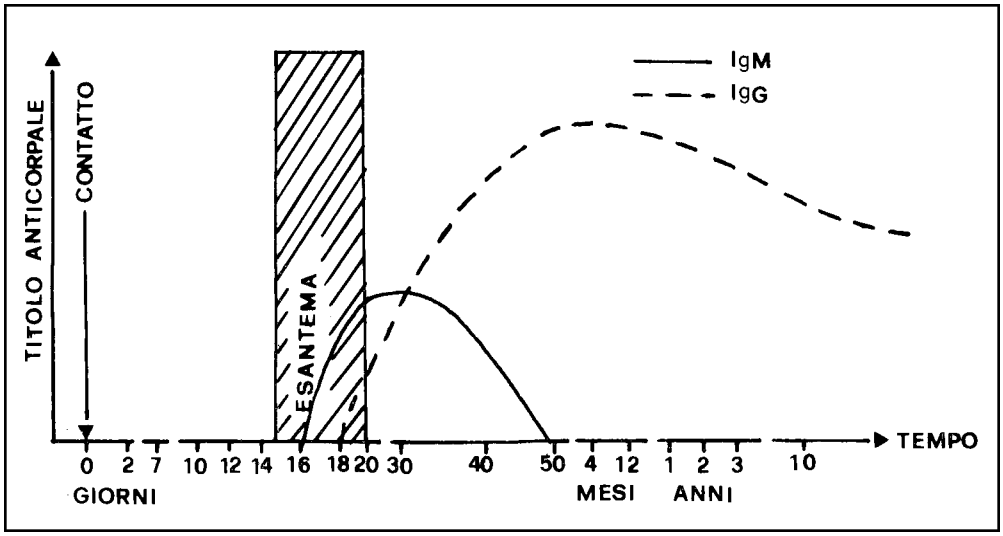
Immunologia — La risposta umorale anticorpale nei confronti della rosolia è caratterizzata dalla comparsa di anticorpi di vario tipo.

Gli anticorpi EAI compaiono durante l'eruzione, il loro titolo si innalza rapidamente, raggiunge un massimo dopo 3-4 settimane dalla comparsa dell'esantema poi scende lentamente e si stabilizza su tassi evidenziabili probabilmente per tutta la vita.

Gli anticorpi N compaiono alcuni giorni più tardi degli EAI, aumentano rapidamente raggiungendo i titoli massimo dopo 4-5 settimane dalla comparsa dell'eruzione per declinare lentamente rimanendo evidenziabili per tutta la vita.

Gli anticorpi FC sono evidenziabili poco tempo dopo la scomparsa dell'esantema, aumentano di titolo progressivamente raggiungendo i livelli massimi dopo 4-6 settimane per declinare rapidamente e non essere più evidenziabili dopo 3-4 anni dall'infezione.

Ciascuno dei tre tipi di anticorpi è associato con le immunoglobuline IgM e IgA. Le IgM e le IgA sono le prime a comparire. Esse si evidenziano già dopo il 15~ giorno dall'infezione, raggiungono il picco massimo intorno al 22~ giorno e declinano rapidamente fino a non essere più evidenziabili al 50~ giorno. Oltre a questo andamento tipico si conoscono casi in cui è possibile reperire le IgM per periodi di tempo più lunghi, fino a 12 mesi. Gli anticorpi di tipo IgG sono evidenziabili verso il 18~ giorno dall'infezione e persistono ad alto titolo, in genere per tutta la vita.



La risposta immunitaria evocata da una reinfezione differisce da quella dell'infezione primaria per due caratteristiche:

— gli anticorpi EAI raggiungono tassi più elevati che nell'infezione primaria;

— l'aumento degli anticorpi è associato soltanto alla frazione delle immunoglobuline specifiche della classe IgG.

La reinfezione decorre in forma subclinica e può verificarsi in soggetti che hanno già superato l'infezione primaria o che sono stati vaccinati. Tra questi ultimi la percentuale di reinfezione è maggiore che tra coloro che hanno contratto l'infezione in modo naturale. Una reinfezione si verifica più facilmente quando la caduta del tasso anticorpale è particolarmente marcata. Nei soggetti che presentano una reinfezione il virus viene eliminato dal nasofaringe per breve tempo e in quantità modesta e non si hanno problemi fetali perché manca la viremia. La vaccinazione con virus attenuato induce nel ricevente la produzione di anticorpi di tipo IgM e IgG, così come avviene nell'infezione naturale, ma a titolo non molto elevato, specialmente per quanto concerne gli anticorpi di tipo FO.

Diagnosi — La diagnosi di infezione rubeolica riposa su dati epidemiologici, clinici e di laboratorio. Questi ultimi possono essere schematizzati come segue:

Indagini virologiche:

a) isolamento del virus da urine, feci, liquido amniotico, secrezioni faringee. Il metodo di isolamento diretto si avvale di linee cellulari continue di rene di coniglio o di scimmia ove il virus esplica effetto citopatico svelabile mediante la prova di neutralizzazione con siero specifico;
b) evidenziazione del virus in immunofluorescenza diretta. E' una tecnica che consente una diagnosi rapida poiché svela la presenza del virus nelle cellule del nasofaringe nei 3 gg. successivi alla comparsa dell'esantema;
c) ricerca del virus con il microscopio elettronico, di uso non comune perché realizzabile in laboratori particolarmente attrezzati e competenti per la lettura del risultato.

Indagini sierologiche:

Test di inibizione dell'emoagglutinazione (EAI): il test sfrutta la proprietà che ha il virus della rosolia di agglutinare le emazie di un gran numero di specie animali. Sulla superficie delle emazie esistono dei recettori variamente accessibili alle emoagglutinine virali e attivabili mediante opportuni trattamenti enzimatici. Se nel siero in esame sono presenti anticorpi specifici, essi formano con l'antigene un complesso antigene-anticorpo per cui i siti emoagglutinanti dell'antigene risultano occupati con conseguente inibizione dell'emoagglutinazione. E' necessario pretrattare i sieri da esaminare per allontanare da essi le beta-lipoproteine e le agglutinine eterologhe. Per questo scopo viene usato del destrano solfato o dell'eparina-cloruro di manganese. Il metodo con destrano solfato sembra essere migliore in quanto rimuove realmente gli inibitori aspecifici senza alterare il quantitativo degli anticorpi IgG e IgM. Questo è il test di base della sierologia rubeolica e può essere impiegato per stabilire se una donna ha bisogno di essere vaccinata, se ha una infezione in atto o se un nenonato è affetto da rosolia congenita. Un tasso di anticorpi uguale o superiore a 1:16 indica la presenza di immunità per pregressa infezione. Un titolo inferiore a quello riportato consiglia di effettuare la vaccinazione.

Test per la ricerca degli anticorpi neutralizzanti (N): la prova non viene impiegata routinariamente per la complessità esecutiva. Infatti questo test deve essere eseguito su colture primarie di cellule di rene di scimmia o su linee continue di cellule di rene di coniglio mediante prova sierologica di interferenza. Per questo, dopo una settimana di incubazione (virus-siero) a 370, le colture vengono superinfettate con virus ECHO-i 1. Se nel siero in esame sono presenti anticorpi specifici, il virus della rosolia viene neutralizzato e non si moltiplica in coltura cosicché il virus ECHO, aggiunto, provoca alterazioni citologiche. Se invece gli anticorpi contro il virus della rosolia sono assenti, il virus non neutralizzato si moltiplica e impedisce la proliferazione del virus ECHO. Ne deriva che le cellule della coltura rimangono inalterate in quanto il virus della rosolia non provoca in queste effetto citopatico.

Test per la ricerca degli anticorpi fissanti il complemento (FC): con questo test si evidenziano gli anticorpi FC che compaiono per ultimi nel corso dell'infezione, raggiungono il titolo massimo in 1-2 mesi e rimangono svelabili per 2-3 anni. La ricerca di questi anticorpi risulta utile quando l'indagine sierologica per la rosolia viene effettuata tardivamente e gli anticorpi EAI hanno raggiunto un titolo stazionario. In questo caso gli anticorpi FO, che compaiono più tardivamente e aumentano più lentamente, possono essere in fase di incremento che, se opportunamente documentato, testimonia la pregressa, recente infezione.

Test immunoenzimatico (ELISA): in questa reazione l'antigene, adsorbito su fase solida, viene incubato con un siero nel quale si ricercano gli anticorpi specifici per l'antigene. Successivamente si aggiunge un secondo anticorpo specifico per il primo (anti-IgG o anti-IgM umane) coniugato con un enzima. Se la reazione è avvenuta si ha la formazione di un complesso antigene-anticorpo-anticorpo + enzima. Dopo allontanamento del coniugato in eccesso con lavaggi successivi, la reazione viene evidenziata mediante l'aggiunta di una soluzione di substrato la quale viene trasformata dall'enzima in un prodotto colorato. L'intensità del colore è proporzionale alla quantità degli anticorpi ricercati. Il metodo presenta il vantaggio di non essere influenzato dalle proprietà anticomplementari del siero, risulta molto preciso e sensibile e può essere effettuato in automazione.

Test di immunofluorescenza indiretta (IF): il test consente di individuare gli anticorpi specifici della classe IgG e della classe IgM. La prova non richiede il pretrattamento del siero in esame per eliminare da esso eventuali inibitori aspecifici (beta-lipoproteine, agglutinine eterologhe). Il test risulta positivo quando si ha fluorescenza nel citoplasma e nella membrana perinucleare del 30-60 O/Q delle cellule esaminate per campo con un ingrandimento di 400 diametri. Il citoplasma delle cellule non infettate, mescolate a quelle infettate come controllo negativo, mostrerà una colorazione rossa e i nuclei risulteranno di colore rosso cupo o nerastro. Se la fluorescenza nucleare e/o citoplasmatica si rileva in tutte le cellule, si dovrà pensare alla possibilità di una reazione prodotta da un anticorpo anti-mitocondrio o anti-nucleo e cioè ad una patologia di tipo immunitario, causa possibile di falsi positivi. Valori in IF maggiori di 1:4 devono essere considerati positivi.

Test fluoroimmunologico (FIA): questo test, già descritto a proposito della diagnosi sierologica della malattia citomegalica, può essere impiegato anche per la ricerca degli anticorpi specifici anti-rosolia della classe IgG e IgM.

La ricerca degli anticorpi IgM-antirosolia è particolarmente utile per la diagnosi di infezione recente. Questi anticorpi vengono bene evidenziati con i metodi IF', ELISA e RIA in fase solida. Attualmente, per la ricerca di questi anticorpi, il metodo immunoenzimatico è quello che sembra essere il più vantaggioso. Comunque, oltre al test immunoenzimatico, nella determinazione delle IgM specifiche, altrettanto affidabile risulta il test in immunofluorescenza. E' consigliabile che questa metodica venga espletata in quei laboratori che già eseguono esami in immunofluorescenza e ciò per la difficoltà di lettura e quindi di interpretazione dei dati ottenuti.

Il test EAI si impiega come prova base per la ricerca del titolo anticorpale minimo al di sotto del quale non c'è sicurezza di protezione nei confronti dell'infezione. Con questo test è quindi possibile valutare se i soggetti stu-

diati presentano o meno uno stato di immunità acquisita. La prova consente inoltre di suddividere la popolazione femminile, in epoca preconcezionale, in due gruppi:

— un primo gruppo sicuramente protetto per aver superato l'infezione naturalmente o per vaccinazione e quindi portatore di un titolo di anticorpi sufficientemente elevato e cioè maggiore o uguale a 1:16;

— un secondo gruppo senza anticorpi o con un titolo di essi basso e cioè minore di 1:16, non protettivi nei confronti dell'infezione anche perché spesso presenti in modo aspecifico.

I soggetti appartenenti al secondo gruppo sono candidati dalla vaccinazione a meno che non si tratti di donne gravide o di donne che possono diventarlo nei due-tre mesi successivi ancorché la possibilità di passaggio del virus al feto non sia stata sempre dimostrata nè sia stato dimostrato in modo certo il potere teratogeno dei virus attenuati.

CONTROLLO DELLA GRAVIDA E DEL NEONATO — Nel caso di donna gravida con negatività anticorpale per la rosolia è necessario eseguire un monitoraggio della gravidanza con un controllo sierologico eseguito ogni 2-4 settimane, almeno per i primi quattro-sei mesi.

Nel caso di donna gravida con titoli positivi per anticorpi di tipo EAI che non ricorda o non sa se ha contratto o meno l'infezione in tempi pregressi, e non è stata vaccinata, è indicato uno studio approfondito del caso perché potremmo essere in presenza di infezione anamnestica antica ma anche di infezione con anticorpi in formazione. Lo studio diagnostico richiede il controllo dei titoli anticorpali ematici eseguito tramite prelievi di sangue effettuati a distanza di 7-14 gg. l'uno dall'altro e la ricerca degli anticorpi specifici della classe IgM evidenziabili, ad esempio, con la metodica ELISA o IF. Il reperimento ditali anticorpi depone per infezione in atto o molto recente. Le ricerca degli anticorpi specifici IgM è utile nel discriminare tra infezione primaria, l'unica pericolosa per il feto, e reinfezione in cui, trattandosi di una risposta di tipo secondario, le immunoglobuline sono rappresentate dalle IgG.

Nel caso in cui c'è motivo di sospettare l'infezione, a seguito di recente contatto con ammalato di rosolia e non è noto se la donna è gravida o no, un semplice ritardo nella comparsa della mestruazione va considerato come una gravidanza in fase iniziale. Se invece è noto lo stato di gravidanza e c'è stato contatto con un soggetto risultato poi affetto da rosolia, è necessario eseguire il dosaggio degli anticorpi EAI in successivi campioni di siero ottenuti a distanza di una settimana l'uno dall'altro, se l'esame viene eseguito entro due settimane dal contatto.

Se il titolo anticorpale rimane identico nei vari campioni di siero, si tratta di infezione pregressa.

Se il primo campione di siero è prelevato immediatamente dopo il contatto, la presenza di anticorpi è da riferire ad una vecchia infezione (perché questi non hanno avuto il tempo di formarsi). Se gli anticorpi sono assenti è necessario eseguire un controllo su di un secondo e un terzo campione di siero prelevati rispettivamente dopo sette e quattordici giorni dal primo. La comparsa di anticorpi evidenzia l'avvenuta infezione. Nei due casi è dirimente la ricerca delle IgM specifiche che confermano la diagnosi di infezione in evoluzione.

Se l'esame viene eseguito entro due settimane dal contatto e il titolo anticorpale risulta maggiore di 1:16, è molto probabile che il soggetto sia immune ma, per prudenza, si consiglia eseguire un secondo controllo a breve distanza di tempo. Se il titolo anticorpale si mantiene identico non c'è stata infezione recente mentre in caso di aumento significativo è necessario completare lo studio del caso con la ricerca degli anticorpi specifici della classe IgM la cui presenza depone, in genere, per infezione acuta. Esistono eccezioni in cui la presenza delle IgM non costituisce un dato di assoluta certezza di infezione acuta in quanto esiste la possibilità che gli anticorpi di tipo IgM siano rilevabili anche per un anno dopo l'episodio acuto. L'uso dei tests descritti, utili nella diagnostica di base dell'infezione, nello studio della, popolazione femminile in epoca preconcezionale, nel monitoraggio della gravidanza a rischio, è determinante nello studio della patologia congenita neonatale secondaria all'infezione intrauterina del feto. In questi casi, nel sangue del neonato, si potranno evidenziare anticorpi di tipo IgG di origine materna, trasferiti per via transplacentare, che si aggiungono a quelli prodotti dal feto stesso in risposta all'infezione intrauterina. Gli anticorpi di origine materna scompaiono dopo il 4~ mese mentre quelli prodotti dal feto possono rimanere a titolo elevato anche per uno-due anni. Gli anticorpi di tipo IgM prodotti dal feto sono evidenziabili anche per sei-sette mesi, con un massimo di positività intorno al terzo-quarto mese. Quindi alla nascita è utile il dosaggio delle IgM specifiche nel sangue funicolare. In caso di positività siamo in presenza di rosolia congenita e il bambino deve essere sorvegliato per evidenziare eventuali malformazioni. Lo studio potrà essere completato con la ricerca del virus della rosolia nel nasofaringe del neonato.

Un metodo semplice per lo screening delle infezioni intrauterine, da impiegare su sangue funicolare, è rappresentato dal dosaggio degli anticorpi di tipo IgM e IgA che non attraversano la placenta e quindi, se reperiti, sono di derivazione fetale e indicano l'avvenuta infezione del prodotto del concepimento durante la vita intrauterina. La ricerca di questi anticorpi può essere effettuata con piastre da imniunodiffusione in grado di evidenziare le immunoglobuline presenti a valori superiori alla norma. Il vantaggio del metodo è quello di poter essere eseguito routinariamente allo scopo di

evidenziare infezioni congenite asintomatiche che altrimenti passerebbero inosservate. Una limitazione del metodo è rappresentata dalla possibilità che le IgM e le IgA dosate siano di derivazione materna per travaso di sangue dalla madre al feto, secondario a lesioni placentari in gravidanza o durante il parto.

Terapia — Non esiste una terapia etiologica per l'ammalato di rosolia, infezione lieve nel giovane ma possibile causa di embriopatia anche grave, per cui l'unico valido presidio nei confronti della malattia è la vaccinazione, con virus vivo attenuato, delle bambine in età prepubere e delle donne non immuni in periodo preconcezionale. Un sospetto pregresso episodio di rosolia non controindica la vaccinazione. La durata dell'immunità post-vaccinica è lunga ma sembra opportuno eseguire richiami ogni 10 anni. La gravidanza va evitata nei tre mesi successivi alla viccinazione anche se non è documentata l'azione teratogena del virus vaccinico.

Profilassi — La profilassi consiste nell'evitare, per quanto possibile, il contagio che risulta particolarmente alto per quelle donne che, per motivi professionali, sono esposte maggiormente al rischio (maestre d'asilo, insegnanti di scuole elementari, infermiere, pediatre). A questo proposito si ricorda che i bambini che hanno contratto l'infezione nei primi mesi di vita intrauterina, nonostante che in essi non sia più accertabile una viremia, eliminano regolarmente il virus attraverso le vie aeree superiori. La possibilità di contagio tramite questi bimbi dura alcuni mesi e, in genere, regredisce dopo sei-nove mesi. Per questo motivo sarebbe opportuno che questi neonati non fossero assistiti da dottoresse, infermiere o altro personale femminile privo di anticorpi contro la rosolia in quanto queste donne potrebbero essere nel primo o primi mesi di gravidanza.

Per quanto concerne la somministrazione alle gravide di gammaglobuline in fase precoce di infezione i pareri sono discordi. Alcuni AA. consigliano la loro somministrazione al più presto possibile e in dosi massiccie. In realtà non c'è assoluta garanzia di protezione, con questo trattamento, nei confronti dell'infezione ed esiste la possibilità che esse possano mascherare le manifestazioni cliniche della malattia senza prevenire l'infezione del feto conferendo magari un inadeguato senso di sicurezza alla madre tale da far considerare inutili successivi controlli o altri provvedimenti che, di volta in volta, la valutazione del singolo caso potrebbe suggerire. Inoltre la somministrazione di gamma-globuline può inficiare l'indagine sierologica in quanto i tests eseguiti possono risultare falsati dalle gammaglobuline somministrate.

Bibliografia

CITOMEGALOVIRUS

Alford Ch. A. Jr., Stagno 5., Reynouds D.W.: Diagnosis of chronic perinatai infections. J. Dis. Child. 129: 455, 1975.

Bartolozzi G., Bernini G.: La malattia da virus citomegalico. Giornale di Malattie Infettive e Parassitarie. 23: 651 e seg., 1971.

Benyes H., Melnick M.: Human Cytomegalovirus. In: Lennette E. H., Spaulding E.H., Truant J.P.: Manual of Clinical Microbiology. A.S.M. Washington, 762, 1974.

Giovannini P., Di Nola F.: Infezioni virali e gravidanza. In: Manuale di Malattie Infettive. Ed. Mi Med. Torino, 1978.

Hanshaw J.B.: Congenital cytomegalovirus infection: A fifteen year perspective. J. Inf. Dis., 123: 555, 1971.

Hofman H.: La diagnostica delle infezioni prenatali. Citomegalia e Rosolia. La Ricerca Clin. Lab. ,7 (Suppì. 1), 67, 1977.

Krugman H., Ward G., Katz H.: Cytomegalovirus infections. In: Infectious Diseases of Children. CV. Mosby Co., St. Louis, 1977.

Meurman OH.: Diagnostica delle malattie virali (Dimostrazione degli anticorpi specifici della classe IgM). La Ricerca Clin. Lab., 10 (Suppì. 2), 69, 1980.

Moroni M., Esposito R., De Lalla F.: Malattie Infettive. Ed. Masson. Milano, 1982.

Nankervis G.A., Kumar ML.: Malattie da citomegalovirus. In: Clin. Med. Nord. Am. Ed. Piccin, Padova, 10: 701, 1979.

Penso G.: Malattia da virus citomegalico. In: Compendio di Malattie Infettive e Parassitarie. La Ricerca Clin. Lab., (Suppì. 1). 232, 1971.

Pescetto G., De Cecco L., Pecorari D.: Manuale di Clinica Ostetrica e Ginecologica. Vol. Il, S.E.U., Roma, 1156, 1980.

Ray C.G.: Cytomegalic inclusione disease. In: Harrison's Principles of Internal Medicine. Mc Graw Hill Kogakusha, Ldt., 1980.

Robbin's Pathology. W.B. Saunders Co., Ldt, Philadelphia - London, 1968.

Schito G.C., Fadda G., Toni M.: Morte fetale: Cause infettive e diagnosi microbiologica. Atti 57~ Congresso Nazionale della Società di Ostetricia e Ginecologia. Napoli, 1975.

Schmitz H., Kampa D., Doerr H.W. e al. IgM antibodies to cytomegalovirus during pregnancy Arch. Virol., 53: 177, 1977.

Spence M.R.: Cytomegalovirus. In: Clin. Med. Nord. Am. Ed. Piccin, Padova, 9:1283, 1978.

Suwansirikul 5.: Primary and secondary cytomegalovirus infection. Arch. Intern. Med. 137: 1026, 1977.

Tolentino P.: Malattia da citomegalovirus. In: Teodori U., Trattato di Patologia Medica. Vol. I.S.E.U., Roma, 1980.

Vasella E., Rossi E.: Congenital cytomegalic inclusion disease. Z. Kinderheilk, 109: 169, 1971.

Waner J.L.: Patterns of cytomegaloviral complement-fixing antibody activity: A longitudinal study of blood donors. J. Infect. Dis., 127: 538, 1973.

Weller T.H.: The cytomegaloviruses: Ubiquitous agents with protean clinical manifestation. New Engì. J. Med., 285: 203, 1971.

Wezel E.: Zur symptomatik und diagnose der generalisierten zytomegalie bei der graviden. Kinderarztl. Prax., 35: 247, 1967.

Yow MD., Taber L.H.: Clin. Obstet. Gynecol., 15: 993, 1972.

Ziegelmaier R., Behrens F., Enders G.: Dimostrazione degli anticorpi IgG e IgM nelle infezioni da virus della citomegalia e della rosolia. La Ricerca Clin. Lah., 10, (Suppi. 2), 83, 1980.

Zunin C., Aicardi G., Jannuzzi C. e al.: Malattia citamegalica. In: Malattie Acquisite nella Vita Intrauterina. Ed. Mm. Med., 19, 1974.

HERPEX SIMPLEX

De Ritis E., Magrassi F., Martoni L.: Herpes Simplex. In: Campanacci D., Manuale di Patologia Medica. Vol. Il, Ed. Mm. Med., Torino, 1967.

Elion GB., Furman P.A., Fyfe J.A. e al.: Selectivity of atcion of an antiherpetic agent, 9-(2-hydroxyethoxymethyl) guanine. Proc. Natì. Acad. Sci., USA, 74: 5716, 1977.

Fiorilli M. et al.: Ormoni timici ed attivazione linfocitaria. Relaz. V~ Congr. Soc. It. Immun. Immunopat., Firenze, 1980.

Haynes R.E.: The spectrum of herpes simplex virus infection in children. So. Med. J., 69: 1069, 1976.

Hermann E.C. Jr., Rawls, W.E.: Herpes Simplex Virus. In: Lennette EH., Spaulding EH., Truant J.P., Manual of Clinical Microbiology. A.S.M. - Washington, 1974.

Hoskins J.M.: Diagnosi Virologica. Ed. Ambrosiana, Milano, 1975.

Laganara D., Fontana T., Vella L. e al.: Isoprinosina: Immunoterapia in pazienti con varie affezioni virali. Arch. Med. Int., VoI. XXXII, N~ 2, 117, 1980.

Lerner A.M.: Infections with herpes simplex virus. In: Harrison's Principles of Internal Medicine. Mc Graw-Hill, Inc., 1977.

Mc Taggart SP., Burns W.H., White DO. e al.: Fc receptors induced by herpes simplex virus. J. Immunol., 121: 726, 1978.

Moroni M., Esposito R., De Lalla F.: Malattie Infettive. Ed. Masson, Milano, 1982.

Pescetto G., De Cecco L., Pecorari D.: Manuale di Clinica Ostetrica e Ginecologica. VoI. Il, SEU, Roma, 1980.

Schito G.C., Fadda G., Toni M.: Morte fetale: Cause infettive e diagnosi microbiologica. Atti 57~ Congresso Nazionale della Società di Ostetricia e Ginecologia. Napoli 434, 1975.

Spence M.R.: Virus herpes simplex tipo Il. In: La Clin. Med. Nord. Am., Ed. Piccin, Padova. 9: 1284, 1978.

Stigliano M., Benedetti P., Antonelli A.: Indagine epidemiologica sulla malattia erpetica. Ann. Sclavo, 9: 667, 1967.

Taber L.H., Brasier F., Couch R.B. e al.: Diagnosis of herpes simplex virus infectiOn by immunofluorescence. J. Clin. Micro., 3: 309, 1976.

Thomas DE., Rawls W.E.: Relationship of herpes simplex virus type 2 antibodies and squamous dysplasia to cervical carcinoma in situ. Cancer, 42: 2716, 1978.

Tolentino P.: Malattia erpetica. In: Teodori U., Trattato di Patologia Medica. Vol. I, SEU, Roma, 1980.

Zunin C., Aicardi G., Jannuzzi C. e al.: Malattia connatale da herpes virus hominis. In: Malattie acquisite nella vita intrauterina. Ed. Mm. Med., 1974.

ROSOLIA

Calisto ML., De Elasi R., Fazio Gentile G. e al.: La rosolia nel quadro della patologia prenatale e perinatale. In: Il Pat. Clin., 11: 12, 1979.

Christie A.B.: Malattie Infettive. Ed. Pensiero Scientifico. Roma, 1971.

De Ritis F., Magrassi F.. Martoni L.: Rosolia. In: Campanacci D., Manuale di Patologia Medica. VoI. Il, Ed. Mm. Med., Torino, 1967.

Fara G.M.: L'immunologia della rosolia. In: Aggiornamenti su Malattie Infettive ed Immunologia. Vol. XVIII, 45, 1972.

Gioannini P., Di Nola F.: Manuale di Malattie Infettive. Ed. Mi Med., Torino, 1978.

Hofman H.: La diagnostica delle infezioni prenatali. La Ricerca Clin. Lab., 7 (Suppì. 1), 67, 1977.

Iwakata 5.: Laboratory diagnosis of rubella virus infection. C.M.A. J., 18: 894, 1973. Luthardt Th.: La rosolia. La Ricerca Clin. Lab., 3: 593, 1973.

Nigro N., Benso L.: Guida all'interpretazione dei risultati del test di emoagglutinO-inibizione nella sierodiagnosi di infezione rubeolica. Mi Ped., 26: 497, 1974.

Penso G.: Rosolia. Compendio di Malattie Infettive e Parassitarie. La Ricerca Clin. Lab. (Suppì. 1), 281, 1971.

Pescetto G., De Cecco L., Pecorari D:. Manuale di Clinica Ostetrica e Ginecologica. Voi. Il, S.E.U., Roma, 1980.

Rawls W.E., Person D.A.: Rubella Virus. In: Lennette E.H., Spaulding E.H., Truant J.P.: Manual of Clinical Microbiology. A.S.M. - Washington, 1974.

Ray C.G.: Rubella. In: Harrison's Principles of Internal Medicine. Mc Graw Hill Kogakusha, Ldt., 1980.

Spence M.R.: Rosolia. Clin. Med. Nord Am. Ed. Piccin, Padova, 9: 1282, 1978.

Tolentino P.: Rubeola. In: Teodori U.: Trattato di Patologia Medica. Vol. I, S.E.U., Roma, 1980.

Ziegelmaier R., Behrens F., Enders G.: ELISA, dimostrazione degli anticorpi IgG e IgM nelle infezioni da virus della citomegalia e della rosolia. La Ricerca Clin. Lab., 10: 83, 1980.

Zunin C., Aicardi G., Jannuzzi C. e al.: Rubeola connatale. In: Malattie acquisite nella vita intrauterina. Ed. Mm. Med., 1974.

INDICE

EDITORIALE

INTRODUZIONE

CITOMEGALOVIRUS

Definizione
Eziologia-
Epidemiologia
Quadri clinici
Immunologia
Diagnosi
Terapia
Profilassi

HERPES SIMPLEX

Definizione
Eziologia
Epidemiologia
Quadri clinici
Immunologia
Diagnosi
Terapia
Profilassi

ROSOLIA

Definizione
Eziologia-
Epidemiologia
Quadri clinici
Immunologia
Diagnosi
Terapia
Profilassi

BIBLIOGRAFIA

Caleidoscopio
Italiano

1. **Rassu S.: *Principi generali di endocrinologia.* Gennaio ’83**
2. **Rassu S.: *L’ipotalamo endocrino.* Giugno ’83**
3. **Rassu S.: *L’ipofisi.* Dicembre ’83**
4. **Alagna., Masala A.: *La prolattina.* Aprile ’84**
5. **Rassu S.: *Il pancreas endocrino.* Giugno ’84**
6. **Fiorini I., Nardini A.: *Citomegalovirus, Herpes virus, Rubella virus (in gravi - danza).* Luglio ’84.**

Caleidoscopio
Rivista mensile di Medicina
anno 2, numero 6

Direttore Responsabile
Sergio Rassu
Via Pietro Nenni, 6
07100 Sassari
Tel.-Fax 079 270464
Tel. mobile 0338 2202502
E-mail: rassu@ssnet.it

Responsabile Commerciale
Alessandra Pater

EDITORE

Consulenti di Redazione
Giancarlo Mazzocchi ed
Angelo Maggio

Segretaria di Direzione
Carmela Tiberti

Servizio Abbonamenti
Fina Grandeppieno
Flavio Damarciasi

Via Rio Torbido, 40
16165 Genova (Italy)
Tel. (010) 83401 Numero Verde 800 801005 (senza prefisso);
Telefax (010) 803498- 809070.
Internet URL:http://medicalsystems.editoria.com e http://www.medicalsystems.it
La Medical Systems pubblica anche le seguenti riviste: Journal of Clinical Ligand Assay, Guida Pratica Immulite®, Caleidoscopio, Kaleidoscope, Caleidoscopio letterario, Pandora, Journal of Preventive Medicine and Hygiene, Tribuna Biologica e Medica.

Stampa
Tipolitografia ATA
16143 Genova - Via G. Torti, 32 c.r.
Tel. (010) 513120 - Fax (010) 503320

Registrazione Tribunale di Sassari n. 189 del 6/11/1984
Iscrizione al Registro Nazionale della Stampa n° 2661 del 2 Settembre 1989

Terza ristampa: Luglio 1984
Sped. in Abb. Post. 45%

Pubblicazione protetta a norma di legge dall'Ufficio proprietà letteraria, artistica e scientifica della Presidenza del Consiglio dei Ministri, dedicata all'aggiornamento professionale continuo e riservata ai medici.

Caleidoscopio viene anche letto e rilanciato da:
"L'ECO DELLA STAMPA"
Via Compagnoni, 28 - Milano