

IL COMPLESSO TORCH

AGGIORNAMENTO TECNICO SCIENTIFICO

A cura di: Dr. Roberto Colombo e Dr.ssa Francesca Cerutti

DOSSIER N.11 | NOVEMBRE 2008

DOSSIER

INDICE

HELICOBACTER PYLORI:

Dalla ricerca all'applicazione clinica

Aspetti epidemiologici

Helicobacter pylori e patologia gastroduodenale

Diagnosi dell'infezione da helicobacter pylori

Terapia: indicazioni e schemi di trattamento

Bibliografia

EPATOLOGIA

Epatiti virali – attualità diagnostica

Epatite virale di tipo a (hav)

Epatite c

Epatite virale di tipo b (ebv)

Epatite virale tipo d (delta) edv

Epatite e

Epatiti croniche e fibromax test

Steatosi

Bibliografia

Le infezioni materno-fetali e perinatali schematizzate in medicina di laboratorio con la sigla TORCH rappresentano un argomento impegnativo nella diagnostica clinica. Il moderno laboratorio puo' fornire al clinico un contributo fondamentale per valutare correttamente la diagnostica infettivologica in gravidanza.

Questa brochure riassume tutte le tematiche relative alle infezioni in gravidanza, riportando le attualita' diagnostiche che rappresentano un valore aggiunto nella risoluzione di importanti quesiti diagnostici.

COMPLESSO TORCH

Nel complesso TORCH sono riassunti gli agenti infettivi che possono caratterizzare l'epoca gestazionale. Assieme ai "classici antigeni microbiologici" aggressivi durante il periodo di gestazione, quali toxoplasma, virus della rosolia, citomegalovirus ed herpes simplex virus, la "O" di others rappresenta un contenitore in crescita che accanto a patogeni conosciuti quali treponema, parvovirus B19, si arricchisce di nuovi patogeni che l'attualita' scientifica propone, come ad esempio HBV, HCV ed HIV (vedi figura 1).

Toxoplasmosi

Others...

Rosolia

Cytomegalovirus

Herpes Simplex

Others: sifilide, epatite, HIV

Queste malattie batteriche, virali e parassitarie possono presentarsi senza sintomi e prive di danni clinici per un adulto immunocompetente. Per il feto, invece, possono risultare pericolose soprattutto se contratte nelle prime fasi dello sviluppo. Il rischio varia a seconda dell'agente infettivo e delle settimane di gestazione; tendenzialmente diminuisce con il progredire dell'epoca gestazionale. Il feto ha una maggiore suscettibilita' alle infezioni virali, soprattutto in epoca gestazionale precoce, in quanto esiste una ridotta risposta cellulo-mediata della madre, una diminuzione dei livelli sierici materni di interferone, così come una ridotta presenza di linfociti citotossici. In gravidanza, quindi, vi è una maggiore suscettibilita' alle infezioni virali materne in quanto le potenzialita' immunologiche sopracitate si riducono (vedi figura 2).

DEPRESSIONE IMMUNITARIA MATERNA

- Risposta cellulo-mediata
- Livelli di interferone
- Linfociti T "citotossici"
- Livelli di interleukina 2
- Linfociti "natural killer"
- A livello periferico inversione del rapporto linfociti T/B

Ciononostante il prodotto del concepimento e l'unità fetto-placentare evidenziano alcuni meccanismi difensivi che si sviluppano progressivamente durante la gestazione. Infatti la placenta raggiunge la completa maturazione entro il quarto mese, e a partire dalla seconda metà della gravidanza esercita una funzione di barriera sia tramite le cellule ad azione fagocitaria, sia con la produzione locale di anticorpi. Gli anticorpi materni, inoltre, vengono trasmessi nel circolo fetale attraverso la placenta mediante un trasporto attivo che avviene tramite un recettore specifico della placenta e l'estremità Fc delle immunoglobuline della classe IgG. Nel liquido amniotico sono presenti concentrazioni di IgA, IgM ed IgG ed un importante fattore batteriostatico che è riscontrabile sino alla trentacinquesima settimana (vedi figura 3).

PLACENTA

- Cellule ad attività macrofagica
- Produzione locale di IgG (?)
- Fattore di permeabilità

LIQUIDO AMNIOTICO

- Presenza di IgA, IgG, IgM
- Fattore batteriostatico contenente zinco (fino alla 35^{ma} settimana)

Come secondo meccanismo antinfettivo si riscontra lo sviluppo progressivo del sistema immunitario del prodotto del concepimento. Il feto, tra il terzo e quarto mese di gestazione, sviluppa l'anticorpopoiesi fetale tramite la differenziazione delle popolazioni linfocitarie T e B. I linfociti timo-dipendenti conferiscono una protezione prevalentemente contro le forme virali e micotiche. I linfociti B iniziano la produzione di immunoglobuline IgM a partire dalla ventesima settimana, qualora stimolati da immunogeni come il virus della rosolia ed il citomegalovirus (vedi figura 4).

IMMUNITA' EMBRIO-FETALE

7^{ma} sett. linfociti a livello periferico
8/9^{ma} sett. linfociti a livello timico
11^{ma} sett. differenziazione dei linfociti in T e B
immunità umorale e cellulo-mediata

nelle settimane successive comparsa di IgA e IgM nel sangue fetale

MECCANISMI DI AGGRESSIONE E MANIFESTAZIONI DI FETOPATIA

Gli agenti infettivi evidenziano tre modalita' principali per raggiungere e colpire il prodotto del concepimento (Fig.5)

TRANSPLACENTARE	ASCENDENTE	CANALE DEL PARTO
Prima infezione	Vagina	Intimo contatto madre-feto
Antigenemia	Focolaio endometriale	
Passaggio		

VIA TRANSPLACENTARE

che si verifica in seguito ad una primo-infezione materna durante la gravidanza. Tale situazione clinica, testimoniata da una risposta immunitaria IgM-mediata, determina la malattia conclamata durante la quale l'antigenemia puo' provocare il passaggio dell'agente infettivo attraverso la placenta.

MECCANISMO ASCENDENTE

sfruttando il quale gli agenti infettivi, solitamente batteri della flora vaginale, provocano un focolaio endometriale e quindi una corioamnioite.

ATTRAVERSAMENTO DEL CANALE DEL PARTO

l'intima connessione che si verifica durante il parto tra madre e feto puo' comportare la trasmissione di infezioni virali e batteriche.

A seconda dell'epoca gestazionale e dalle vie sfruttate dagli agenti infettivi, il prodotto del concepimento puo' subire danni infettivi differenti. Le conseguenze delle infezioni dipendono da numerosi fattori tra i quali lo stadio dello sviluppo e la maturazione della reattivita' immunologica e della reattivita' aspecifica del feto. Queste infezioni possono portare al mancato impianto dell'ovulo, ad aborto e morte intrauterina con nascita di un neonato morto, a malformazioni (per arresto dell'organogenesi), prematurita', infezioni latenti e/o guarigioni con nascita di un bambino sano. Le conseguenze piu' gravi si verificano quando l'infezione viene contratta precocemente (primo trimestre di gravidanza), mentre nella seconda meta' della gravidanza si assiste frequentemente alla nascita di bambini sani o che manifestano sintomatologie non gravi. La tabella 6 indica i danni che possono causare gli agenti infettivi, nelle varie epoche della gestazione e quali sono gli agenti infettivi che sono maggiormente attivi in queste differenti epoche. La medesima tabella evidenzia il riassunto di tutti gli agenti microbici del complesso TORCH, differenziando per ognuno, le modalita' di aggressione al prodotto del concepimento e l'epoca di trasmissione in cui piu' frequentemente colpiscono ed infine il quadro clinico che possono determinare.

IL COMPLESSO TORCH

Aggiornamento tecnico scientifico

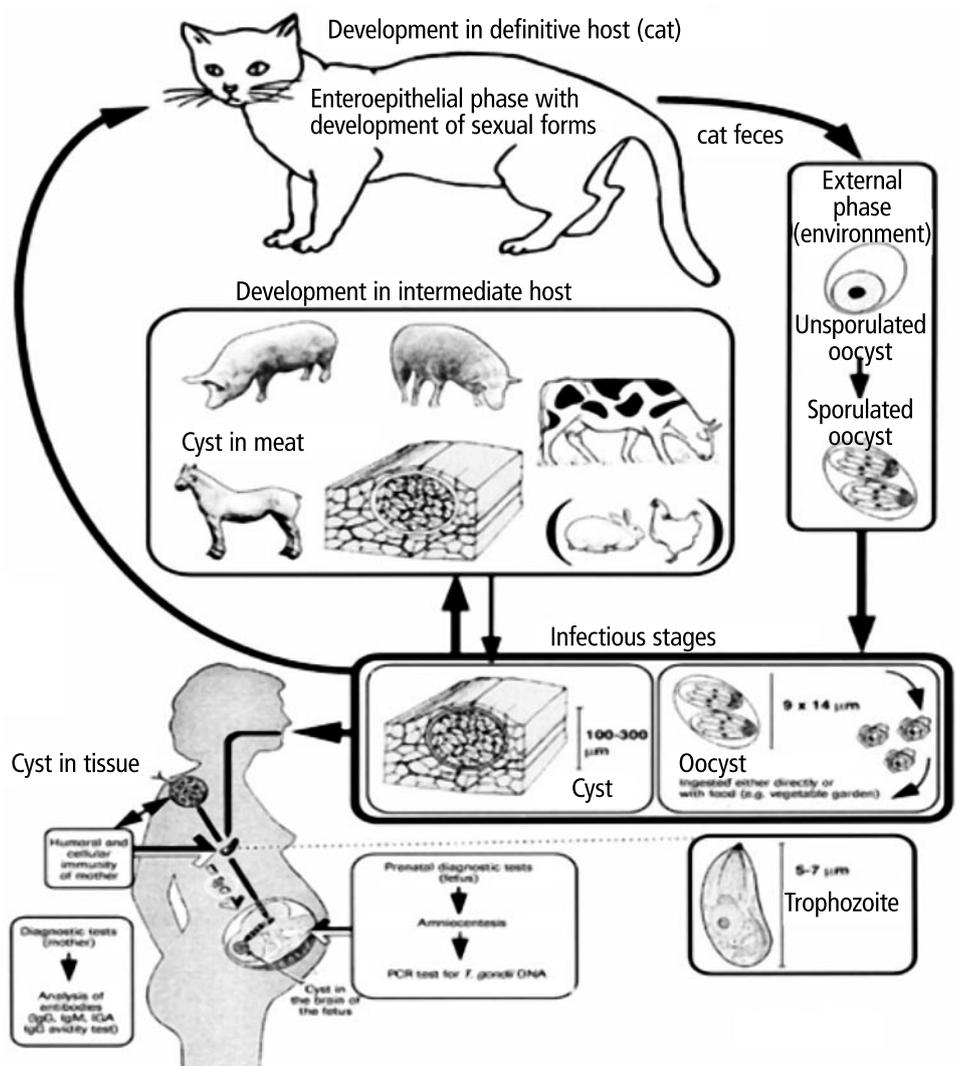
Dossier n.11 | Novembre 2008

Agente eziologico	Modalità o epoca	Quadro Clinico
Toxoplasma Gondii	In tutte le epoche (più grave nel 1° trimestre)	Morte in utero; forma acuta generalizzata; forma subacuta-cronica; forme attenuate
Virus della rosolia	Trasplacentare (1° e 2° trimestre)	Aborto spontaneo; embriopatia rubeolica; sindrome rubeolica a inizio tardivo; deficit isolati; expanded ribella syndrome
Citomegalovirus	Trasplacentare (più grave nel 1° trimestre)	Aborto spontaneo; infezione asintomatica; epatosplenomegalia, porra piastriopenica; microcefalia, calcificazioni cerebrali, corioretinite; polmonite interstiziale
Virus Herpes simplex (tipo 1 e tipo 2)	Passaggio nel canale del parto, raramente trasplacentare.	Infezione asintomatica; lesioni cutanee senza lesioni viscerali; infezione disseminata; lesioni cutanee con isolata compromissione di un organo
Agente eziologico	Modalità o epoca	Quadro Clinico
Parvovirus B19	Trasplacentare	Aborto spontaneo; idrope fetale
Treponema pallidum	Dopo la 16 settimana	Morte in utero; sifilide congenita precoce; sifilide congenita tardiva
Virus dell'epatite B	Passaggio nel canale del parto	Epatite acuta neonatale; stato di portatore cronico asintomatico
HIV	Trasplacentare già nel 1° trimestre, passaggio nel canale del parto.	Infezione da HIV nelle sue diverse espressioni

TOXOPLASMOSI

La Toxoplasmosi è una zoonosi causata dal *Toxoplasma gondii*, un protozoo parassita intracellulare che esiste in tre forme, a seconda dello suo stadio evolutivo: la forma proliferativa o trofozoita, la cisti tissutale e l'oocisti. L'ospite definitivo della toxoplasmosi e' il gatto, mentre una grande varieta' di uccelli e mammiferi, tra cui l'uomo costituiscono gli ospiti intermedi (vedi figura 7).

Il parassita si moltiplica nell'intestino dei felini e produce delle oocisti che vengono espulse con le feci e nel giro di 1-5 giorni divengono infestanti. A questo punto altri animali come bovini ed ovini (o nuovamente i gatti) possono ingerire accidentalmente queste oocisti ed infestarsi a loro volta; ecco quindi che le carni ed i visceri di questi ospiti intermedi, che contengono il toxoplasma, possono fungere da cibo per animali selvatici nei quali il ciclo ricomincia.



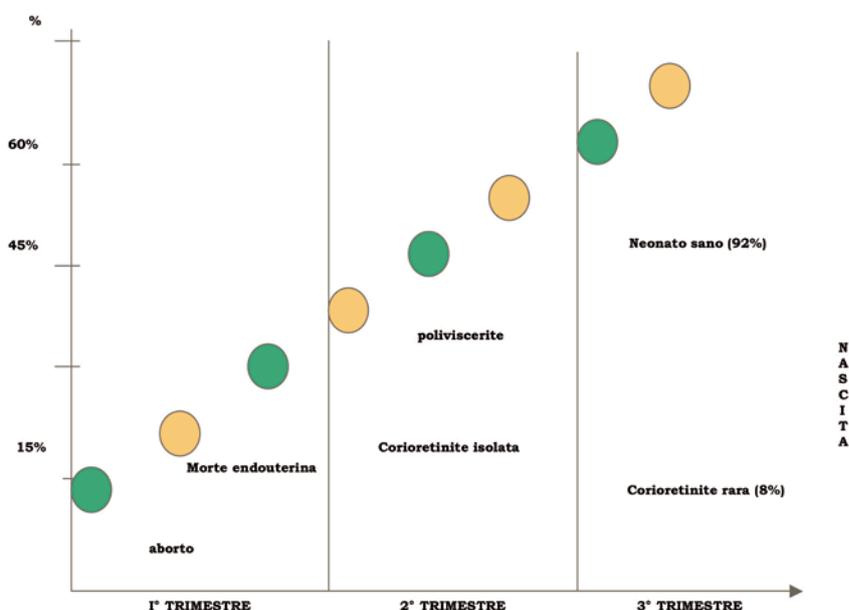
Nell'infezione da *Toxoplasma gondii* è possibile distinguere due fasi successive: la prima (toxoplasmosi primaria) è caratterizzata da un periodo di settimane o mesi in cui il parassita si può ritrovare nel sangue e nei linfonodi in forma direttamente infettante, e la seconda è la fase sintomatica (ingrossamento delle linfoghiandole, stanchezza, mal di testa, mal di gola, etc...).

Il soggetto che contrae una toxoplasmosi resta protetto per tutto l'arco della vita da recidive, perché risponde all'infezione con produzione di anticorpi e linfociti specifici. La risposta del soggetto al *Toxoplasma gondii* determina il passaggio alla seconda fase della toxoplasmosi (toxoplasmosi postprimaria), caratterizzata dall'assenza di segni clinici ma con la persistenza del parassita nell'organismo, "incistato" nei muscoli e nel cervello. Se le difese immunitarie vengono meno (sia per malattia, sia per trattamenti medici), il microrganismo può tornare aggressivo, riprodursi e indurre nuovi danni.

La toxoplasmosi è ad alto rischio nel caso in cui venga contratta in gravidanza: l'infezione può infatti passare al prodotto del concepimento attraverso la placenta, provocando in determinate circostanze malformazioni oculari e del sistema nervoso centrale o addirittura l'aborto o la morte in utero (vedi tabella 8).



In occasione di una primo-infezione acuta durante la gravidanza (al contrario delle infezioni virali) la probabilità della trasmissione transplacentare aumenta con l'avanzare della gravidanza. Durante il primo trimestre di gravidanza un'infezione acuta da *Toxoplasma* porta generalmente a morte del prodotto del concepimento, mentre altri effetti nel prosieguo delle epoche gestazionali, comprendono manifestazioni di gravità variabile che possono essere rappresentate da encefaliti con gravi disordini neurologici ad infezioni subcliniche con manifestazione di deficit intellettivi nell'età adulta. La possibilità di infestazione è quindi crescente con l'aumentare dell'età gestazionale, mentre la gravità delle lesioni segue un andamento inverso, tanto minore quanto più il contagio fetale è tardivo. Le percentuali di trasmissione fetale aumentano dal 20% al 54% ed al 64% dal primo al secondo al terzo trimestre rispettivamente. Queste differenze sembrano dovute al diverso spessore della placenta nelle varie fasi della gravidanza. Complessivamente il rischio di trasmissione verticale è del 40%; la gravità del danno fetale è inversamente proporzionale all'età gestazionale. Quanto è più precoce l'infezione, tanto più grave sarà il danno fetale (vedi figura 9).



DIAGNOSTICA DELLA TOXOPLASMOSI

E' doverosa premessa ricordare che e' sempre opportuno effettuare un test di screening in epoca pre-gestazionale. Nel caso di sospetta infezione gravidica e' fondamentale indagare la sierologia materna mediante il dosaggio di anticorpi anti toxoplasma IgG ed IgM. Il principale obiettivo di questi test sierologici, soprattutto come misura di prevenzione durante la gravidanza e' quello di chiarire se la gestante ha avuto un'infezione recente oppure se un'infezione in fase attiva era presente gia' prima del concepimento. Gli schemi rappresentati nella tabella 10 sono patrimonio di esperienza del moderno laboratorista. Cio' non di meno l'esperienza ha evidenziato la persistenza nel tempo, oltre ventiquattro mesi, delle IgM specifiche capaci in tal caso di esplicitare una infezione "recente" non gia' una infezione acuta. La determinazione delle IgM specifiche e' insufficiente per una diagnosi di toxoplasmosi in fase acuta (vedi tabella 10).

IgG positive IgM negative	Immunità pregressa
Gravidanza → nessun rischio	
IgG negative IgM negative	Norme igieniche
Monitoraggio mensile	
IgG positive/negative IgM positive	Possibile infezione acuta
Terapia, monitoraggio fetale	

La diagnosi di infezione acuta può essere semplificata grazie alla determinazione delle avidità delle IgG. Questi anticorpi hanno un ciclo di maturazione/attività tale per cui gli anticorpi prodotti nelle prime fasi della malattia evidenziano bassa avidità e gli anticorpi rilevabili dopo un ciclo infettivo completo mostrano, al contrario, alta avidità. Queste analisi di screening per la determinazione delle IgG e delle IgM specifiche e la determinazione dell'avidità delle IgG, possono indirizzare compiutamente il clinico nella individuazione di un'infezione recente o acuta, ma non dirimere totalmente i dubbi diagnostici relativi ad infezioni occorse in epoche pregestazionali o in epoche relative al primo trimestre di gravidanza. Pertanto si è introdotto nella diagnostica l'utilizzo di un test immunologico di conferma, basato su antigeni ricombinanti in grado di fornire informazioni specifiche sugli anticorpi che sono correlati ai vari stadi di infezione del toxoplasma. Gli antigeni ricombinanti più significativi sono: ROP 1, MAG1, SAG1, GRA7 e GRA8. Essi rappresentano anticorpi diretti contro antigeni espressione dei tachizoiti e bradizoiti.

L'attività diagnostica nel campo della toxoplasmosi richiede quindi l'introduzione di test di conferma quantitativi e qualitativi basati su antigeni ricombinanti, i quali possono evidenziare con maggior precisione in quale epoca gestazionale è incorsa l'infezione acuta.

Gli antigeni ricombinanti usati nel test di conferma sono rappresentativi dei tachizoiti che caratterizzano la fase attiva dell'infezione, dei bradizoiti oppure di entrambi gli stadi.

Questi sono antigeni immunodominanti e la reattività anticorpale contro di essi facilita la conferma dello stadio di infezione

- | | |
|------|---|
| ROP1 | Caratteristico della risposta immune IgM. Le IgM persistono normalmente fino alla fase subacuta dell'infezione; le IgG a bassa avidità non sono rilevabili se l'infezione è molto pregressa |
| MAG1 | La risposta immune IgA e IgM è normalmente assente; le IgG a bassa avidità non compaiono all'inizio della fase I e non sono presenti nelle fasi subacute e di latenza. |
| SAG1 | Reattività non specifica per IgM. Le IgG a bassa avidità non compaiono generalmente fino alla fase II dell'infezione e non sono presenti nella fase di latenza. Il titolo delle IgG normalmente persiste per tutta la vita. |
| GRA7 | La risposta immune IgM è rara, ma esclusiva della fase acuta. IgG a bassa avidità sono già presenti all'inizio della fase I, poi l'avidità aumenta fino alla fine della fase I. Il titolo IgG spesso persiste per tutta la vita |
| GRA8 | IgM presenti normalmente durante la fase acuta, in diminuzione nella fase subacuta. IgG a bassa avidità sono già presenti all'inizio della fase acuta, nella fase subacuta e nella fase di latenza. Il titolo IgG non persiste nelle infezioni molto pregresse. |

L'introduzione del test di conferma con antigeni ricombinanti rende quindi possibile individuare uno schema diagnostico per interpretare lo stadio di infezione in presenza di IgM positive:

- > Test Elisa
- > Test IgG di avidità
- > Test di conferma immunoblot con antigeni ricombinanti del Toxoplasma che permette l'identificazione sicura di anticorpi specifici diretti contro antigeni significativi di Toxoplasma gondii.
- > Test IgG di avidità immunoblot

La risposta immune ad un'infezione con *Toxoplasma gondii* è caratterizzata da elevata variabilità da un punto di vista sierologico. L'interpretazione dei dati è resa molto complicata dalla possibile persistenza delle IgM, in molti casi, per anni dopo l'infezione. Il principale antigene per la risposta IgM è l'antigene ROP1, mentre la reattività delle IgM verso gli altri antigeni è meno significativa.

Gli anticorpi IgM verso ROP1 sono quasi sempre presenti durante la fase precoce dell'infezione e sono di solito responsabili della persistenza a lungo termine del titolo delle IgM. Nella fase precoce dell'infezione anche le IgM contro GRA8 risultano spesso rilevabili e persistono oltre la fase acuta dell'infezione, sebbene per un tempo non molto lungo.

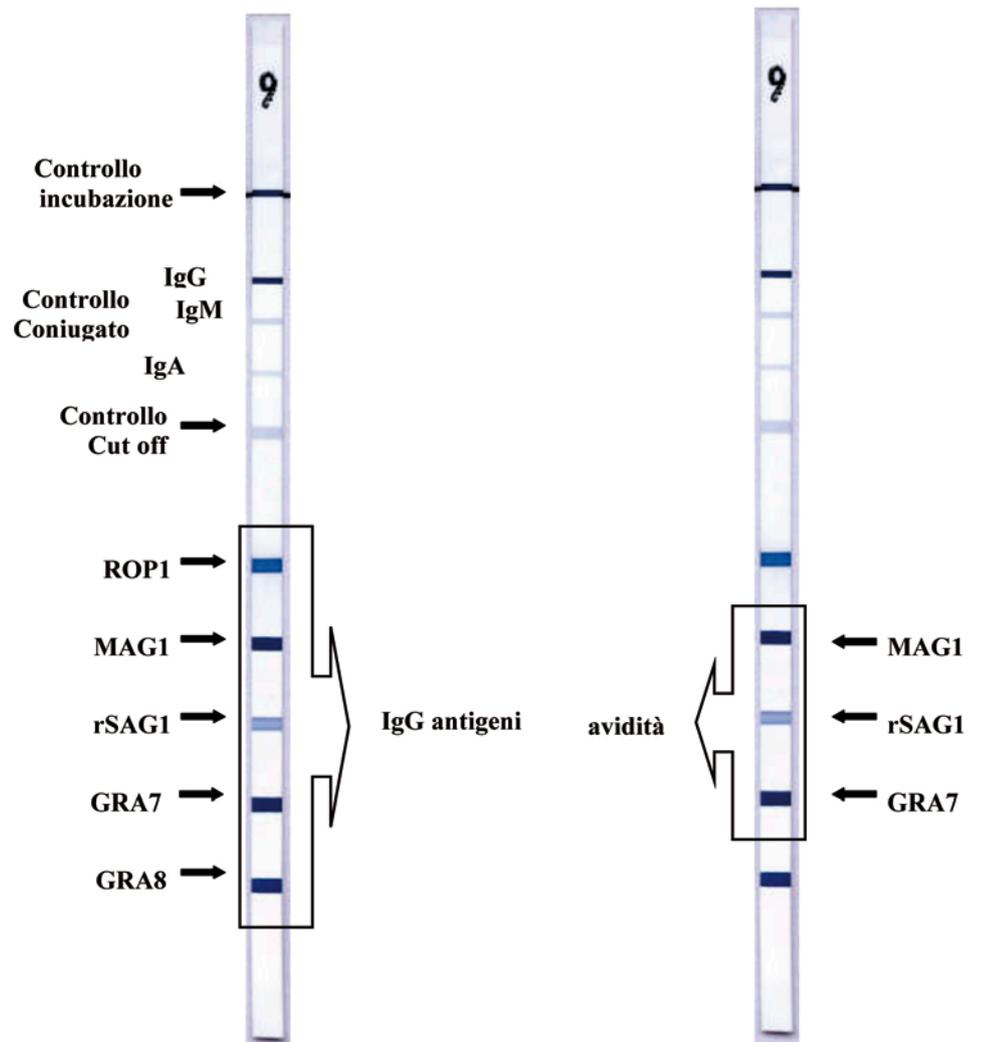
La risposta immune delle IgG è principalmente caratterizzata dalla reattività verso GRA7 e SAG1. Le IgG contro GRA7 e GRA8 sono di norma presenti all'inizio della fase I dell'infezione, mentre le IgG contro MAG1 si ritrovano più tardi.

Le IgG verso SAG1 vengono prodotte non prima della fase II. Gli anticorpi IgG contro SAG1 e GRA7 sono rilevabili in genere per tutta la vita, mentre il titolo per ROP1 e GRA8 decresce al di sotto del limite di rilevabilità.

Nella maggior parte dei casi la determinazione dell'avidità delle IgG verso un particolare singolo antigene permette una valutazione più attendibile dello stato di infezione, soprattutto per la differenziazione tra infezione acuta e infezioni subacute con IgM persistenti.

Nel valutare i risultati del test, le reattività di IgG ed IgM devono essere sempre considerate insieme.

RecomLine Toxoplasma: Antigeni specifici per avidità



RecomLine Toxoplasma può essere usato per:

- > Conferma o chiarimento di indici di avidità screening bassa o intermedia
- > Più precisa differenziazione dei tempi di infezione
- > Conferma di risultati di screening poco chiari
- > Aiuta a rispondere a domande come:

Infezione acuta o pregressa?

Tempo di infezione?

Infezione rilevante per la gravidanza?

Rischio per il feto?

La tabella seguente evidenzia uno schema ponderato che integra le differenti tipologie analitiche ed esprime, a seconda della positività di anticorpi con differenti antigeni, la fase acuta della malattia.

IgG	Avidità IgG	IgM	Interpretazione
Negativo	n.d.	Negativo	Nessuna evidenza sierologica di infezione
Negativo	n.d.	Positivo (soprattutto ROP1, spesso GRA8 e raramente GRA7)	Probabile infezione acuta (fase I)
Positivo (GRA7 e/o GRA8, più tardi MAG1 raramente SAG1)	Avidità in aumento da bassa ad alta verso GRA7 e GRA8 da bassa ad intermedia verso MAG1	Positivo (soprattutto ROP1, spesso GRA8, raramente GRA7)	Probabile infezione acuta (fase I)
Positivo (GRA7, GRA8, MAG1 debole per SAG1)	Avidità alta verso GRA7, da intermedia ad alta verso GRA8e MAG1, da bassa ad intermedia SAG1	Positivo (soprattutto ROP1, spesso GRA8)	Probabile infezione acuta con (fase II)

Positivo (GRA7, MAG1, SAG1)	Avidità da intermedia ad alta verso SAG1, alta verso MAG1 e GRA7	Positivo (soprattutto ROP1, raramente GRA8)	Probabile infezione subacuta con IgM persistenti (fase III)
Positivo (SAG1, GRA7, spesso MAG1)	Avidità alta verso MAG1, SAG1 e GRA7	Negativo	Infezione latente (fase IV)

IL COMPLESSO TORCH

Aggiornamento tecnico scientifico

Dossier n.11 | Novembre 2008

Nel valutare i risultati del test, le reattività di IgG ed IgM devono essere sempre considerate insieme.

Le fasi dell'infezione toxoplasmosi corrispondono di solito ai seguenti periodi di tempo:

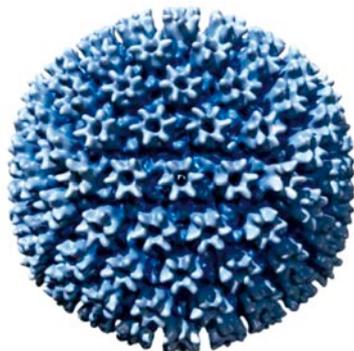
FaseI: 0-3 mesi

FaseII: 3-6 mesi

FaseIII:6-12 (-36) mesi

FaseIV:>12->(-36) mesi

CITOMEGALOVIRUS



Il citomegalovirus (CMV) appartiene alla famiglia degli Herpesviridae. Il suo genoma è costituito da una singola macromolecola di DNA a doppia elica e si trasmette attraverso secrezioni contaminate, trapianti di tessuti infetti, trasfusioni, rapporti sessuali. L'infezione ha un andamento endemico ed è ubiquitaria, generalmente asintomatica nei soggetti immunocompetenti. In alcuni soggetti può manifestarsi come un' infezione simil-mononucleotica a Paul Bunnell-negativa. Esistono vari ceppi virali e quindi l'immunità acquisita non protegge dalle re-infezioni esogene né elimina la

possibilità di una malattia più o meno sintomatica da riattivazione endogena: infatti la principale caratteristica del CMV, come d'altronde di tutta la famiglia erpetica, consiste nella capacità di rimanere latente nell'organismo dopo l'infezione primaria e di riattivarsi a distanza di mesi o anni.

Il CMV rappresenta il più comune agente patogeno di infezione virale congenita ed è la causa principale di danno congenito al sistema nervoso centrale nei paesi industrializzati. L'infezione primaria durante la gravidanza può provocare una trasmissione intrauterina del virus nel 40% dei casi, e i neonati possono soffrire di patologie gravi nel 10% dei casi. La trasmissione del CMV al feto può essere anche conseguenza di riattivazione endogena. Le manifestazioni di fetopatia (fig.13) possono essere di lieve entità così come di notevole alterazione del sistema nervoso centrale.

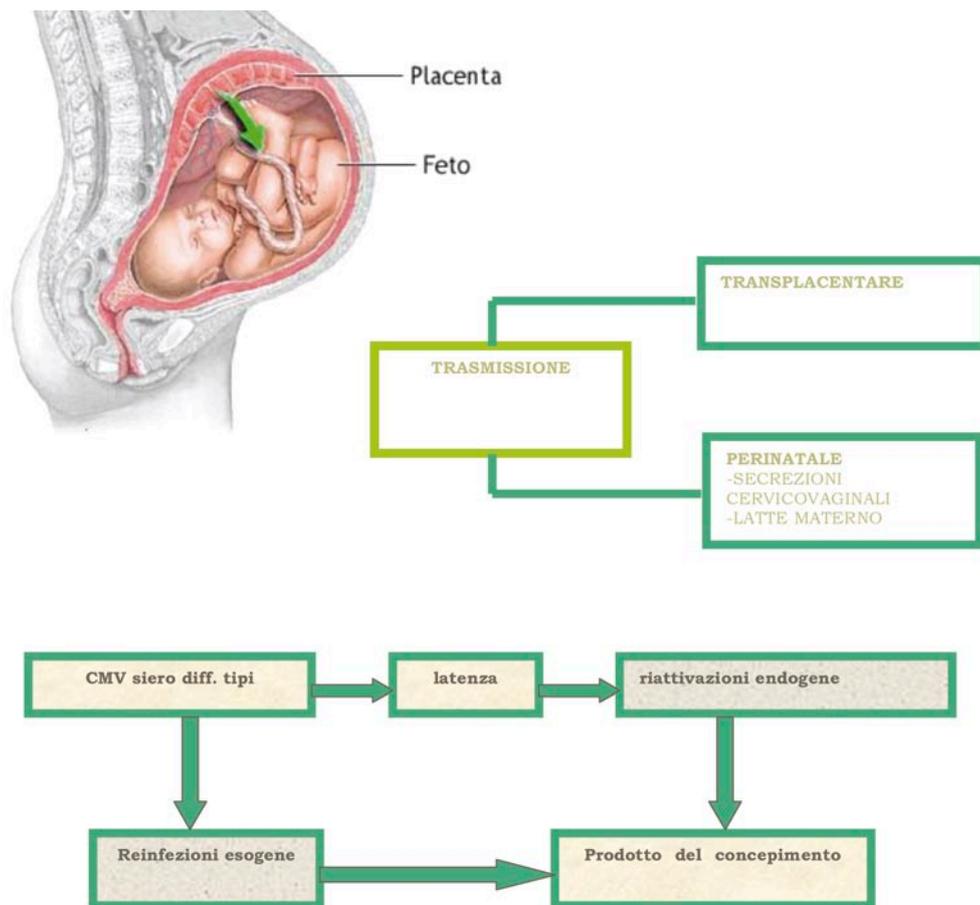
ritardo di sviluppo intrauterino

- epatosplenomegalia
- anomalie ematologiche (specialmente trombocitopenia)
- manifestazioni cutanee, comprese petecchie e porpora

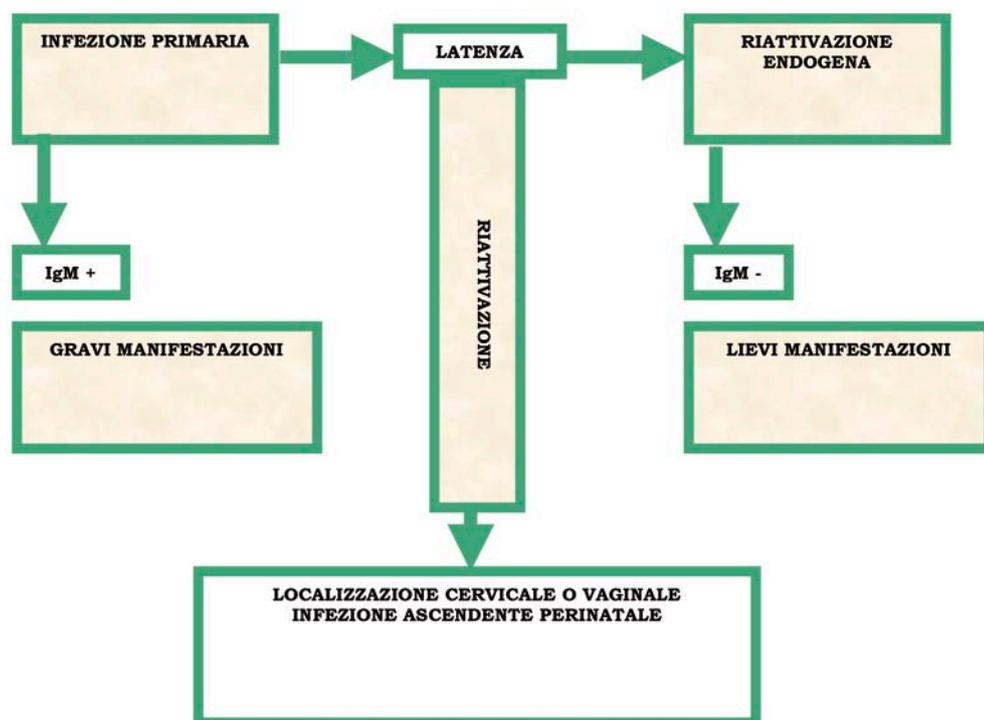
- sistema nervoso centrale:

- Microcefalia
- ritardo psicomotorio-mentale
- ventricolomegalia
- atrofia cerebrale
- corioretinite
- sordità neuro-sensoriale
- calcificazioni intracerebrali con distribuzione periventricolare

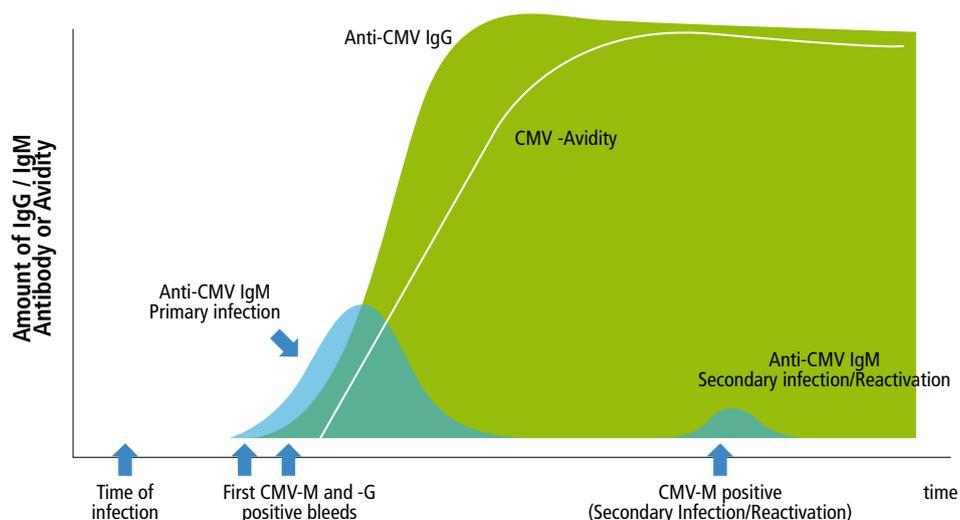
La trasmissione al prodotto del concepimento avviene per via transplacentare e in fase perinatale (fig.14-15). La trasmissione transplacentare (fig.14) avviene sia per una primo-infezione in gravidanza, che ha un'aggressività notevole nel passaggio transplacentare, sia per una re-infezione o riattivazione endogena con minore attitudine al passaggio transplacentare. Quella perinatale avviene tramite le secrezioni cervico-vaginali durante il parto o attraverso il latte materno durante l'allattamento al seno.



I metodi per la diagnosi di infezione da CMV attualmente in uso si basano sulla determinazione di anticorpi specifici o sulla ricerca diretta del virus. Lo screening anticorpale è eseguito generalmente con dei tests immunometrici basati sulla ricerca di anticorpi specifici della classe IgG e IgM. Questa tipologia di analisi fornisce informazioni sullo stato della risposta immunitaria umorale. Tuttavia (fig. 17) è molto difficile schematizzare la diagnostica di tale infezione per la capacità di latenza del virus e per il potenziale di re-infezione.



Quindi non è possibile differenziare in modo inequivocabile lo stato dell'infezione (primaria, riattivata o pregressa). La sierologia classica relativa alle malattie infettive si basa sull'osservazione che gli anticorpi IgM specifici si formano solo temporaneamente, mentre gli anticorpi della classe IgG persistono per lungo tempo. Per tale motivo il riscontro delle sole IgM specifiche evidenzia lo stadio di infezione acuta, mentre la presenza delle sole IgG, senza IgM, è segno di infezione pregressa. Tuttavia, a causa della variabilità della risposta immune e della possibilità di avere comportamenti sierologici aberranti (ad esempio IgM persistenti, riattivate o assenti) si possono avere notevoli difficoltà interpretative. La diagnostica può essere aiutata parzialmente dalla determinazione dell'avidità degli anticorpi IgG. L'avidità è utile in quanto basata sul processo di maturazione dell'affinità di questi anticorpi IgG per il proprio antigene nel corso della risposta immunitaria al CMV: generalmente un'avidità bassa è indicativa di infezione primaria mentre un'avidità alta è indicativa di un'infezione passata o di una riattivazione. Verosimilmente però la risposta immunologica dei sieri umani alle infezioni del CMV è estremamente variabile. L'interpretazione dei risultati è resa molto difficoltosa in particolare dal fatto che gli anticorpi IgM possono persistere per molti mesi dopo l'infezione o al contrario che le infezioni primarie possono indurre titoli molto bassi o addirittura non rilevabili di IgM.



I metodi diagnostici per il CMV attualmente in uso sono basati sulla rilevazione di anticorpi specifici contro CMV, sulla rilevazione del virus stesso o delle sue componenti. La scelta del metodo dipende da specifici problemi di ciascuno caso. Per valutare lo stato di infezione da CMV possono essere utilizzati tests di conferma qualitativi e quantitativi con antigeni specifici ricombinanti (western-blot) che aiutano in maniera notevole l'interpretazione dei risultati sia per le IgG che per le IgM. Il test CMV western-blot è impiegato come conferma di risultati positivi nei tests di screening. Il vantaggio è evidenziato dalla possibilità di determinare la reattività anticorpale verso singoli antigeni.

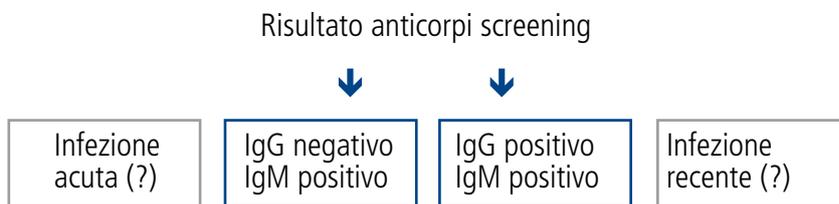
Nella fase precoce dell'infezione si possono rilevare anticorpi IgG diretti principalmente contro la proteina p150 del tegumento e contro la proteina p65, ed anche contro le proteine IE1 e CM2. Non vi sono normalmente anticorpi contro le glicoproteine (gB1 e gB2). Di solito il titolo anticorpale delle IgM è positivo e diminuisce dopo 6-12 settimane.

Gli anticorpi per le IgG diretti contro p150 e gB1/gB2 senza altre reattività anticorpale rappresenta un quadro tipico dell'infezione progressa (almeno 6 mesi).

Gli anticorpi contro gB1 possono comparire una settimana dopo la sierconversione, invece gli anticorpi gB2 vengono rilevati non prima di 6-8 settimane. Di conseguenza la presenza di anticorpi anti gB2 esclude con tutta probabilità un'infezione primaria entro le prime 6-8 settimane.

La diagnosi sierologica di riattivazione può mostrare un titolo lungamente persistente ed alto contro p150, le glicoproteine di membrana (gB1 e gB2), IE1, CM2, e p65, combinate a un titolo positivo per IgM. Questo deve essere verificato con l'antigenemia pp65 o PCR (tabelle 18-19.)

RAGIONI PER CONFERMA



? infezione acuta ?

? infezione pregressa ?

? IgM persistenti ?

? tempo d'infezione ?

? IgM aspecifiche?

? rilevante per la gravidanza ?

? rischio per il nascituro ?

NECESSITÀ DI CHIARIMENTO

Vantaggi di conferma con antigeni ricombinanti

recomBlot CMV IgG:

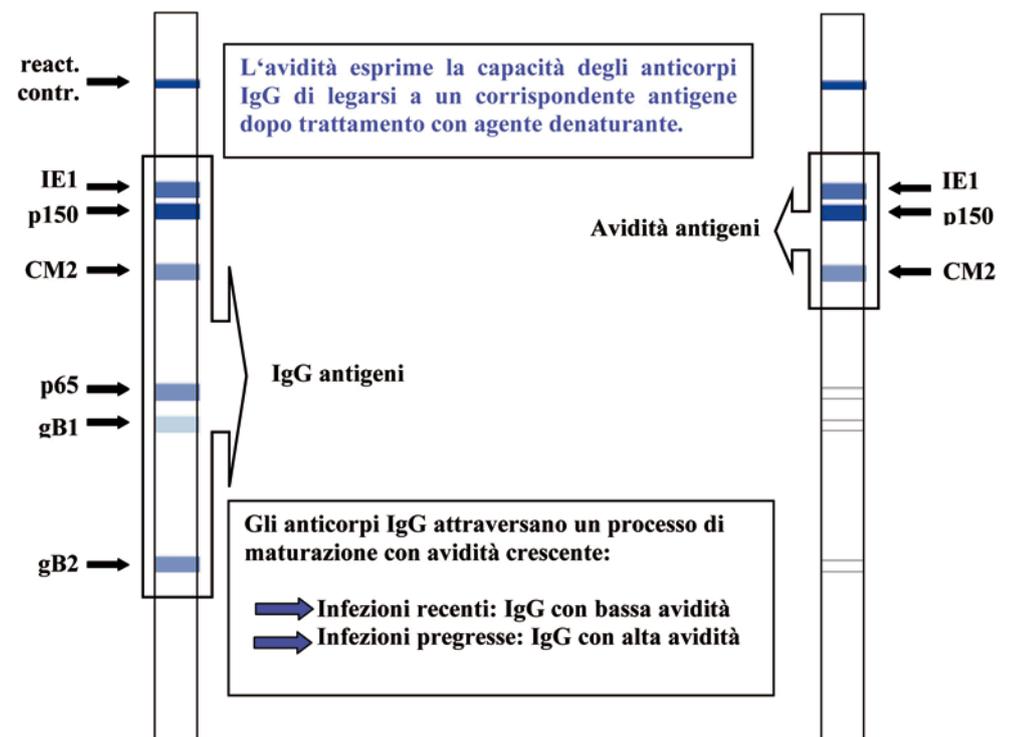
- > una reattività negativa per p150 e gB2 indica un'infezione acuta entro 6 settimane
- > una reattività positiva per gB2 indica un'infezione oltre 6 settimane
- > una isolata reattività per p150 (con o senza proteine gB) indica un'infezione passata da più di 6 mesi (e.g. case 4)

recomBlot CMV IgM:

E' auspicabile confermare IgM positive inquanto:

- > anticorpi IgM possono persistere a lungo dopo un'infezione primaria da CMV
- > anticorpi IgM possono manifestarsi dopo infezioni ricorrenti da CMV
- > anticorpi IgM possono essere falsamente positivi:
 - Infezioni acute di altri patogeni (stimolazione policlonale e.g. EBV)
 - Reazione aspecifica (e.g. malattia autoimmune)

recomBlot CMV IgG e avidità



IL COMPLESSO TORCH

Aggiornamento tecnico scientifico

Dossier n.11 | Novembre 2008

Interpretazione del test			
recomBlot IgG Positivo	Reattività gB2 negativa (possibile reattività gB1)	recomBlot IgM Positivo o Negativo	Sospetta infezione primaria o sospetta infezione di almeno 6-8 settimane (gB2 non responder). Per verificare le due opzioni si consiglia la determinazione dell'avidità.
recomBlot IgG Positivo	Reattività p150 e gB2 negativa	recomBlot IgM Positivo	Sospetta infezione primaria entro le prime 6-8 settimane dopo l'infezione.

Interpretazione del test			
recomBlot IgG Positivo	Reattività gB2 debole (reattività gB1 positiva o negativa)	recomBlot IgM Positivo (titolo IgM residuo) o già negativo	Sospetta infezione di almeno 6-8 settimane.
recomBlot IgG Positivo	Con reattività isolata p150 (con reattività gB1 e/o gB2)	recomBlot IgM generalmente negativo (positivo, è possibile titolo IgM persistente contro p150)	Sospetta infezione pregressa (normalmente di almeno 6 mesi)

ROSOLIA

La rosolia è una malattia infettiva moderatamente contagiosa, ad eziologia virale, che colpisce prevalentemente, ma non esclusivamente, il bambino. L'agente infettivo è un togavirus a RNA. Ha una diffusione nell'ecoambiente mondiale, si manifesta prevalentemente in età scolare (andamento endemo-epidemico con epidemie ogni 6 anni). La trasmissione è interumana, l'infezione avviene tra un soggetto malato ed uno sano. L'eliminazione avviene attraverso il naso-faringe, la penetrazione avviene per via inalatoria per la mucosa nasale e congiuntivale. È caratterizzata da esantema maculo-papuloso e da tumefazioni linfoghiandolari, retronucali, retrocervicali (fig.20). Ha abitualmente un decorso benigno. L'infezione acuta primaria e la vaccinazione determinano immunità permanente.

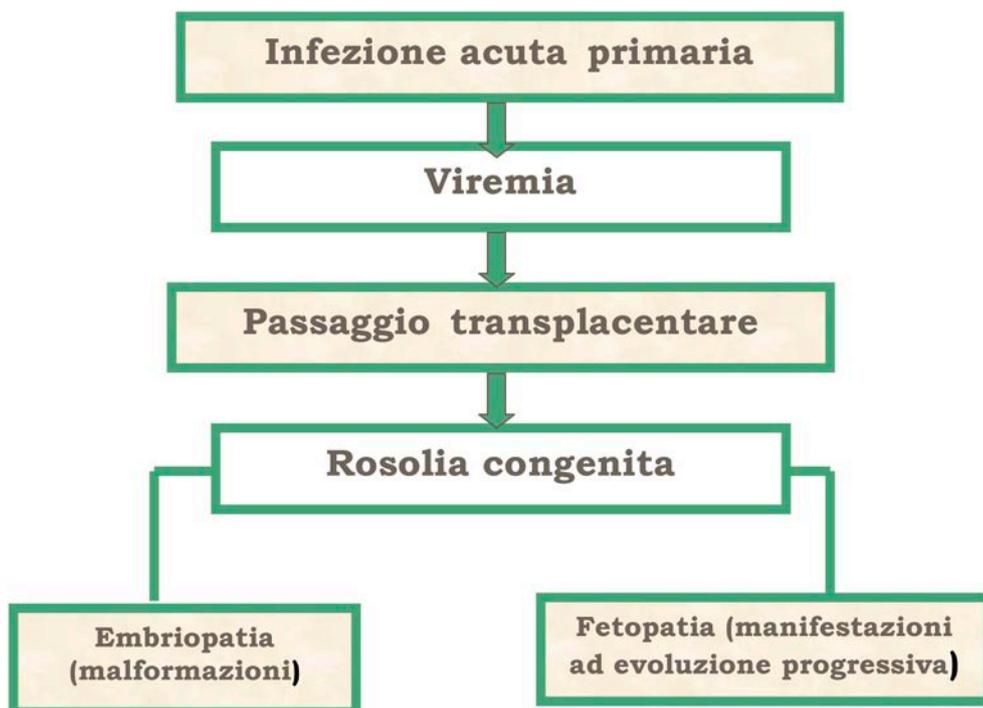
ROSOLIA

**PERIODO DI INCUBAZIONE: 14-21
giorni**



ESANTEMA 50% dei casi
(anche congiuntivite, linfadenopatia
retroauricolare, aumento delle
plasmacellule nel circolo periferico)

Contratta durante la gravidanza può determinare la morte del feto o la comparsa di gravi malformazioni (rosolia congenita). Durante la gravidanza, la viremia materna determina un'infezione placentare che può rimanere localmente circoscritta, ma che più spesso può raggiungere la circolazione fetale mediante la quale si dissemi in ogni organo. Il virus si moltiplica rapidamente nei tessuti embrionali ove provoca necrosi cellulare, danni cromosomici e alterazioni dei processi mitotici, ritardando e rendendo anomala l'organogenesi (fig.21).



La trasmissione può verificarsi durante tutto il periodo gestazionale, il maggior rischio di passaggio transplacentare si verifica nelle prime 16 settimane di gravidanza. L'infezione congenita avviene durante la fase viremica dell'infezione materna. Le reinfezioni materne senza viremia non sono rischiose per il feto. Per quanto riguarda il rischio di embriopatia malformativa, esso varia (fig.23) a seconda dell'epoca gestazionale in cui è stata contratta l'infezione materna. Il passaggio transplacentare avviene in percentuale superiore al 60% se la prima infezione avviene entro le prime 4 settimane di gestazione. Diminuisce al 40-50% se l'infezione avviene nelle prime 5-8 settimane. Si riduce fra il 10 e il 20% con infezione primaria tra le 9 e le 12 settimane e si riduce ulteriormente al di sotto del 10% se l'infezione primaria avviene dopo la 12 settimana.

ROSOLIA MATERNA CONTRATTA ENTRO L'ETA' GESTAZIONALE DI:	RISCHIO DI EMBRIOPATIA MALFORMATIVA
Fino a 4 settimane	> 60%
5-8 settimane	40-50%
9-12 settimane	10-20%
13-16 settimane	< 10%

L'embriopatia rubeolica è caratterizzata da alterazioni oculari (fig.24) che si manifestano con cataratta e glaucoma, alterazioni uditive contrassegnate da sordità neurosensoriale, cardiopatie congenite con persistenza del dotto di Botallo e stenosi dell'arteria polmonare e infine da alterazioni neurologiche con ritardi psico-motorio. Tali manifestazioni differiscono in percentuale a seconda dell'epoca della prima infezione (fig.25). Esiste poi la fetopatia rubeolica che è caratterizzata da ritardato accrescimento intrauterino, da alterazioni ossee, con anomalie dell'osteogenesi e della ossificazione a livello delle metafisi delle ossa lunghe, alterazioni ematologiche, anemia oppure porpora trombocitopenica, alterazioni viscerali, epatosplenomegalia e lesioni neurologiche.

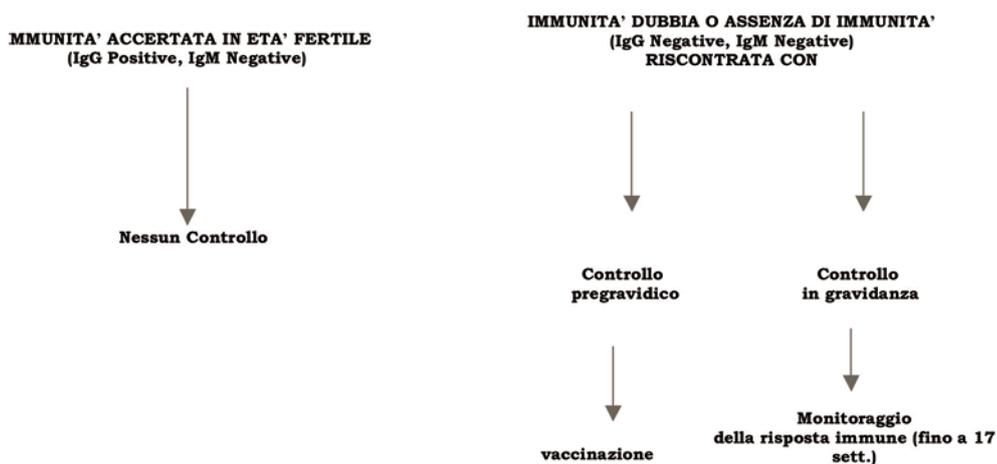
DIAGNOSTICA DELLA ROSOLIA IN GRAVIDANZA

Vi sono problematiche riscontrabili nella gestione del problema rosolia in una donna in gravidanza. Esse sono caratterizzate dalla mancata conoscenza dello stato immunologico della donna e dal mancato ricordo anamnestico di eventuali infezioni o vaccinazioni in età scolare. Vi è necessità di un approccio approfondito al problema con definizione del quadro immuno-specifico nel caso in cui esista un sospetto di infezione primaria di una donna in gravidanza con necessità di stabilire l'eventuale momento del contagio in rapporto all'epoca di gestazione.

Età gestazionale	Oculari	Uditive	Cardiache	Neurologiche
Fino a 4 sett.	62%	85%	60%	55%
5-8 sett.	30%	74%	58%	60%
9-12 sett.	8%	68%	30%	22%
13-16 sett.	<1%	50%	5%	10%

- Alterazioni oculari
 - cataratta, glaucoma
- Alterazioni uditive
 - sordità neurosensoriale
- Cardiopatie congenite
 - persistenza del dotto di Botallo
 - stenosi arteria polmonare
- Alterazioni neurologiche
 - ritardo psicomotorio

La diagnosi di laboratorio può essere effettuata attraverso la ricerca degli anticorpi specifici (ricerca di IgG specifiche anti-rosolia, dalla ricerca di IgM specifico e con l'utilizzo IgG-avidità) o attraverso l'isolamento virale. L'appropriatezza delle indagini di laboratorio evidenzia l'utilizzo più corretto delle indagini sierologiche per l'infezione rubeolica (fig.26)



IgG positive IgM negative	Immunità pregressa
Gravidanza → nessun rischio	
IgG negative IgM negative	Norme igieniche
Monitoraggio mensile	
IgG positive/negative IgM positive	Probabile infezione acuta
Terapia, monitoraggio fetale	

L'avidità di un anticorpo nei confronti di un antigene è espressa dalla capacità che ha l'anticorpo stesso di formare con l'antigene legami stabili. Nella rosolia una bassa percentuale dell'avidità delle IgG è riferibile ad infezione acuta o acuta-recente, mentre alte percentuali dell'avidità sono riferibili ad infezioni acquisite da più di 4 mesi.

Gli accertamenti di laboratorio per la conferma di diagnosi di rosolia congenita prevedono: ricerca delle IgM specifiche che risultano positive nel 96% dei casi e che permangono tali per 6-12 mesi consentendo la conferma diagnostica anche in epoca non neonatale. Quando le IgM risultano positive alla nascita vanno ripetute almeno una volta all'età di 2 mesi per escludere positivizzazioni tardive per trasmissione tardiva dell'infezione materna. La ricerca delle IgG specifiche e il test di avidità possono permettere di studiare la cinetica nel tempo delle IgG specifiche e assumere valore diagnostico anche nel dosaggio del siero del neonato. In questi casi in test di avidità delle IgG specifiche risulta quindi di grande utilità in epoca neonatale, infatti trovare un'avidità che si mantiene elevata nel tempo depone fortemente per l'infezione acquisita in utero. L'isolamento del virus da campioni biologici tramite metodiche di biologia molecolare rappresenta un grande ausilio diagnostico per tale evenienza.

Indagini di laboratorio

E' possibile valutare le variazioni dello stato sierologico nei seguenti casi:

1. in epoca preconcezionale
2. in gravidanza
3. nel neonato (e nel periodo neonatale)

1) IN EPOCA PRECONCEZIONALE

Valutazione dello stato sierologico della donna fertile:

- mancata conoscenza dell'immunità da parte della paziente
- mancato ricordo di pregressa infezione/vaccinazione in età scolare della paziente

CONFERMA DI LABORATORIO

IgM negative, IgG positive => soggetto immune

IgM negative, IgG negative => soggetto recettivo (eventuale vaccinazione con controllo dell'efficacia della stessa)

2) IN GRAVIDANZA

Valutazione dello stato sierologico della donna gravida:

CONFERMA DI LABORATORIO

IgM negative, IgG positive => gravida immune

Effettuare ulteriori indagini solamente in presenza di sintomi compatibili con l'infezione oppure se la paziente è esposta a casi di rosolia (reinfezione). Nel caso specifico di reinfezione si può effettuare una ricerca diretta con isolamento virale RNA-PCR ed una ricerca indiretta, valutando la presenza di IgM positive fugaci e di IgG positive con un incremento del titolo anticorpale in un secondo prelievo da eseguire dopo 15 giorni.

Va verificata l'avidità delle IgG: alti tassi di avidità corrispondono ad infezione avvenuta da almeno sei mesi.

IgM negative, IgG negative => gravida recettiva, rischio di infezione acuta primaria.

Eseguire monitoraggio.

In caso di infezione acuta sono da effettuare la ricerca diretta con isolamento virale RNA-PCR e/o la ricerca indiretta per valutare la sierconversione:

positività delle IgM specifiche
incremento del titolo delle IgG positive
test dell'avidità (valore basso)

3) NEL NEONATO E NEL PERIODO NEONATALE

I test da eseguire su tutti i nati da madre con rosolia in gravidanza e/o sui nati che presentano sintomi o segni riferibili a rosolia congenita sono i seguenti:

- ricerca diretta isolamento virale RNA-PCR su campioni biologici
- ricerca indiretta valutando la positività delle IgM specifiche e delle IgG

CONFERMA DI LABORATORIO

Ricerca delle IgM specifiche:

se positive entro il primo mese di vita => possibile diagnosi di infezione congenita

se negative => ripetizione del test all'età di 1 mese*

* nella valutazione va tenuto presente che non tutti i neonati con infezione congenita risultano IgM positivi alla nascita.

Ricerca delle IgG specifiche:

dosaggio delle IgG ogni mese per i primi 6 mesi di vita (in caso di persistenza di elevati titoli possibile infezione contratta in utero).

La scomparsa delle IgG specifiche nel secondo semestre di vita esclude l'infezione congenita.

HERPES SIMPLEX 1-2.

Il virus dell'Herpes simplex, appartenente alla famiglia degli Herpesviridae è un virus a DNA. Di tale virus sono noti due differenti sierotipi che possiedono antigeni comuni e antigeni specifici (HSV 1 e HSV 2) che si distinguono per minime differenze antigeniche. Entrambi i virus possono essere causa di lesioni connatali. L'infezione da HSV 1 si contrae sovente nella prima infanzia per contagio interumano diretto da soggetti portatori di lesioni evidenti clinicamente o da soggetti con infezione asintomatica o da eliminatori del virus mediante la saliva. L'infezione da HSV 2 è prevalentemente a trasmissione sessuale e quindi tipica della vita adulta. Tale virus è il maggior responsabile dell'herpes genitale, localizzato sulla cute o sulle mucose genitali femminili e maschili. Gli herpesvirus sono caratterizzati dalla capacità di determinare infezioni che, dopo l'esaurimento della fase clinica susseguente l'infezione primaria, si mantengono allo stato latente per moltissimi anni o per tutta la vita, riattivandosi temporaneamente, con la ricomparsa di manifestazioni cliniche e in seguito ad una serie di stimoli diversi (ciclo mestruale, raggi UV, etc.) o per una diminuzione della reattività immunitaria cellulo-mediata. Quindi per l'herpes simplex 1 e 2 si verifica la persistenza nell'ospite allo stato latente con ricorrenti riattivazioni sintomatiche.

Il 5% delle donne in età riproduttiva ha un'anamnesi positiva per infezione erpetica. Il 30% possiede anticorpi specifici. L'infezione erpetica può manifestarsi con diverse modalità: infezione primaria in caso di prima-infezione; infezione persistente quando, pur in assenza di malattia conclamata, si ha la produzione di virus infettante; infezione latente quando, pur essendo presente il genoma virale all'interno delle cellule nervose, non viene prodotto il virus infettante; infezione ricorrente quando il paziente presenta una o più recidive con una sintomatologia più sfumata e di durata limitata nel tempo rispetto all'infezione primaria.

Infezione primaria

Le lesioni compaiono a distanza di 2-14 giorni dall'esposizione e durano solitamente da 7 a 20 giorni. Sono caratterizzate da vescicole elastiche che possono rompersi ed ulcerarsi sia a livello della mucosa periorale sia a livello di quella vaginale. Le mucose appaiono infiammate ed edematose. L'infezione primaria a livello della mucosa vaginale nel 70-90% dei casi può evidenziare il coinvolgimento della cervice. Durante la primo-infezione può esservi una viremia della durata media di 6/12 giorni che si manifesta soprattutto nel periodo prodromico e nella prima fase della manifestazione clinica. La primo-infezione conferisce un'immunità permanente 3-4 settimane dopo il contatto. Tale presenza di immunità non previene però le ricadute locali.

Infezioni ricorrenti.

Solitamente compaiono a distanza di 3-6 mesi da un'infezione primaria soprattutto per HSV 2. Il 15 % di tutte le gravide con una storia di infezione di herpes HSV 2 ha una ricorrenza al parto. La ricorrenza può essere asintomatica o determinare solo sintomi locali rappresentati da dolore, disuria, bruciore, perdite vaginali, linfadenopatia. Le lesioni durano per 9 giorni e la viremia, quando compare, dura solo 48 ore.

Herpes simplex 1-2 in gravidanza

La trasmissione in gravidanza o in fase perinatale è più frequente nell'infezione primaria, meno probabile in presenza di anticorpi omologhi (gli anticorpi anti-HSV2 prevengono sia l'infezione neonatale da herpes simplex 2 che l'infezione da HSV 1). Le forme da HSV 2 conseguono generalmente al contatto con secrezioni vaginali materne infette al momento del parto, più di rado è stato documentato il passaggio

transplacentare del virus, in questi casi può derivare aborto o prematurità.

La trasmissione transplacentare è molto rara, si verifica nel 5% delle infezioni primarie in seguito ad una viremia. Può determinare microcefalia, microoftalmia, calcificazioni intracraniche e corioretinite.

La trasmissione attraverso il canale del parto è più frequente e viene a determinarsi per l'intimo contatto madre-feto nella fase del parto. Il 75%-90% dei neonati con HSV nascono da donne asintomatiche.

Le lesioni da infezione connatale da virus herpes simplex (fig.27) possono dare una forma gravissima caratterizzata da poliviscerite, anemia emolitica, porpora trombocitopenica a prognosi infausta. Una forma grave con infezione sistemica del prodotto del concepimento caratterizzata da meningoencefalite.

Una forma lieve caratterizzata da lesioni vescicolare cutanee e mucose.



Poiché l'infezione perinatale da HSV rappresenta un serio problema medico è indicato uno studio clinico sierologico in epoca pre-concezionale. Donne gravide senza anticorpi anti-HSV: in gravidanza sarà effettuato uno studio sierologico per la sorveglianza e la testimonianza di un'infezione primaria acuta. Qualora la sierologia rimanesse negativa per tutto l'arco della gravidanza non esiste alcuna problematica al momento del parto. Al contrario, se durante i controlli si assiste ad una sieroconversione, ciò è testimonianza di infezione contratta in gravidanza con possibile grave fetopatia.

Nelle donne con positività agli anticorpi anti-HSV 1-2, si eseguirà un monitoraggio sierologico in cui la recidiva può essere sospettata da un'aumento significativo degli anticorpi della classe IgG (vedi fig.28).



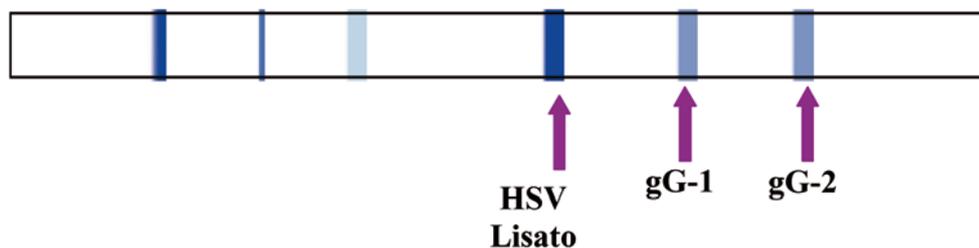
Conferma anticorpi HSV

- > for positive ELISA results
- > typ specific differentiation for HSV-1/HSV-2 ELISA result
- > serological confirmation for PCR and/or cell culture
- > unclear ELISA results

Caratteristiche immunoblot

- > Alta sensibilità HSV-1 e HSV-2
- > Alta specificità delle glicoproteine ricombinanti (separate per gG1/HSV-1 e gG2/HSV-2)

recomLine HSV-1 e HSV-2 IgG:



SIFILIDE

La sifilide, o lue, è una malattia infettiva contagiosa dovuta a *Treponema Pallidum*, generalmente trasmessa con i rapporti sessuali, ma talvolta contratta in utero (sifilide congenita). Antica regina delle malattie veneree, si manifesta con un decorso "ciclico" (stadio primario, stadio secondario, stadio di latenza/stadio terziario) ed è caratterizzata da lesioni specifiche cutanee, cutaneo-mucose e viscerali. L'infezione materna in gravidanza permette il passaggio di *Treponema Pallidum* al prodotto del concepimento in genere soltanto dopo la XVI settimana di gestazione. Nella lue congenita si distinguono due forme a seconda che la sintomatologia si presenti nei primi due anni di vita o successivamente: sifilide congenita precoce e congenita tardiva.

La diagnosi:

Le indagini di laboratorio per la diagnosi di lue si basano sull'identificazione del *Treponema Pallidum* nei materiali patologici o più classicamente con metodi sierologici.

Sierologia della lue.

Gli esami sierologici sono di due tipi:

- indagini non treponemiche (VDRL o RPR)
- indagini treponemiche.

Indagini non treponemiche.

Evidenziano, con l'uso di un antigene cardiolipinico-lecitinico, gli anticorpi di tipo reaginico IgG e IgM che compaiono nella lue da 1 a 3 settimane dopo la comparsa del sifiloma primario. Il titolo aumenta durante il periodo secondario ed inizia a decrescere durante la fase di latenza. Negli stadi tardivi tale titolo può essere negativo oppure a basso titolo.

Le prove sierologiche treponemiche impiegano il *Treponema Pallidum* quale antigene, dimostrando quindi anticorpi specifici anti-treponemici. I tests più conosciuti sono il TPHA e l'FTA. Da alcuni anni si sono introdotte le analisi immunometriche (EIA) che permettono di distinguere in maniera specifica e sensibile anticorpi anti-*Treponema* della classe IgG e della classe IgM. Attraverso questo avanzamento diagnostico è possibile distinguere la sifilide in sifilide attiva (IgM positive) e sifilide spenta (IgM negative). Da alcuni anni per risolvere quesiti diagnostici non facilmente risolvibili è stato introdotto un test di conferma in immunoblotting. (figura A)

Sifilide congenita.

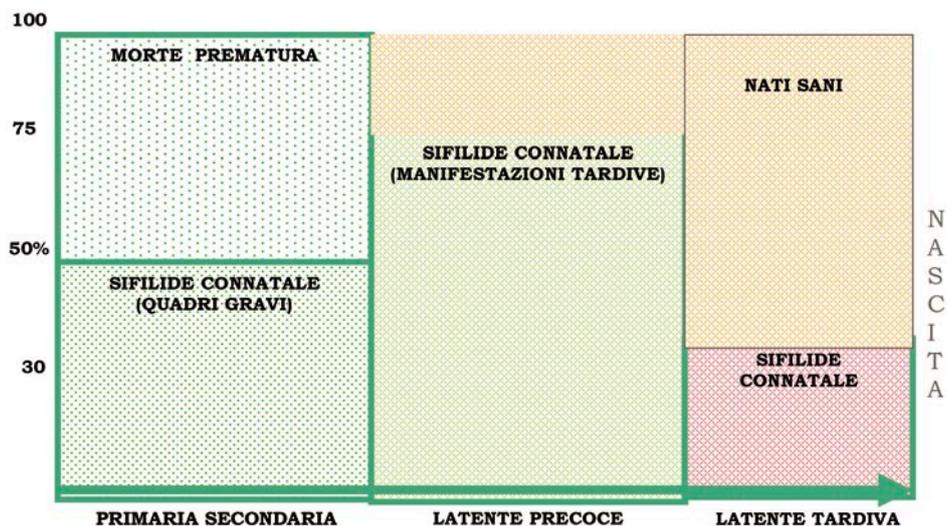
L'infezione luetica soprattutto nello stadio di sifiloma primario e secondario evidenzia un'antigenemia che può condizionare la trasmissione transplacentare di spirochete. L'aggressione attraverso la via transplacentare è possibile durante tutto il periodo di gravidanza e più frequente nel terzo trimestre. Tale passaggio può raggiungere il 40% degli infetti provocando raramente perdita del prodotto del concepimento ma più frequentemente si possono osservare manifestazioni post-natali precoci (entro i 2 anni) con un neonato affetto ma asintomatico per i primi mesi. Si evidenziano poi nel tempo lesioni muco-cutaneo (penfigo-luteico palmare o piantare, esantema maculo-papuloso, ragadiperiofizioli), rinite purulenta nel 10% dei casi, osteocondriti, periostiti (25%), nefriti o sindrome nefrosica (5%), epatosplenomegalia (5%), linfadenopatia (5%).

Le manifestazioni post-natali tardive sono caratterizzate da neurosifilide, sordità, alterazioni dei denti e ossa.

IL COMPLESSO TORCH

Aggiornamento tecnico scientifico

Dossier n.11 | Novembre 2008



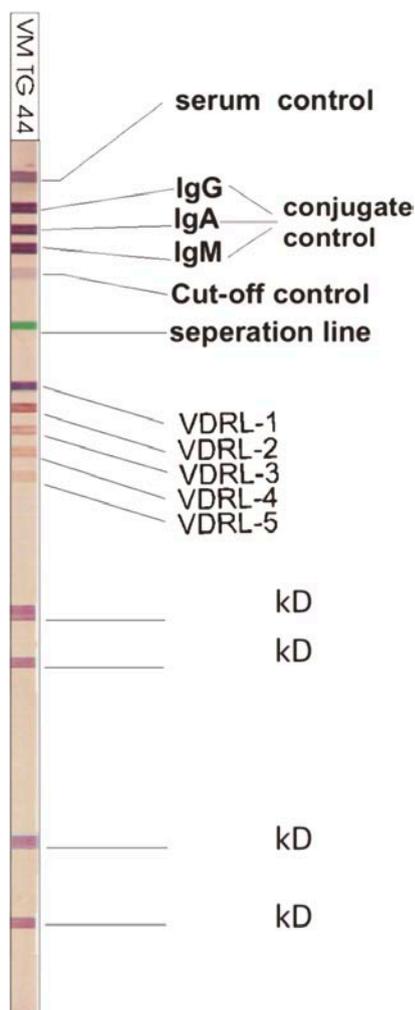
Tutte le prove non treponemiche mostrano in generale l'inconveniente di una notevole incidenza di risultati falsamente positivi e falsamente negativi, i primi si osservano transitoriamente in molte malattie infiammatorie virali e batteriche. I tests treponemici sono utili nel monitoraggio delle gravide in quanto permettono di valutare l'andamento anticorpale. Nonostante l'introduzione nella diagnostica della ricerca delle IgG e delle IgM anti-treponema in molte situazioni sierologiche si rende necessario effettuare il test di conferma. Il test di conferma treponemico IgG e IgM in immunoblot utilizza gli antigeni proteici specifici di *Treponema pallidum* p47, p44.5, p17, p15 e determina quantitativamente gli anticorpi specifici IgG e IgM contro antigeni VDRL. La presenza di bande specifiche deve essere considerata indicativa di malattia. Per una diagnosi clinica definitiva occorre correlare i risultati del test immunoblotting con altri tests e con la storia clinica del paziente. Gli antigeni p47, p44.5, p17, p15 sono altamente specifici per il *Treponema pallidum*. In particolare: p47 è una proteina maggiore di membrana e attiva le cellule endoteliali; p44.5 è una lipoproteina; p17 è una proteina maggiore di membrana e p15 è una lipoproteina importante per la risposta immuno cellulo-mediata. L'uso combinato di test treponemici e soprattutto dell'innovativo immunoblotting permette al clinico di valutare in maniera più compiuta il rischio infettivo di una donna risultata positiva ai tests di screening anti-treponemici. Per una valutazione globale i risultati combinati del test per le IgG e per le IgM devono essere interpretati insieme.

IL COMPLESSO TORCH

Aggiornamento tecnico scientifico

Dossier n.11 | Novembre 2008

Treponema ViraBlot IgM	Treponema ViraBlot IgG	VDRL ViraBlot IgM	VDRL ViraBlot IgG	Interpretazione
-	-	-	-	Non indicativo di infezione con Treponema. Nel caso si sospetti un'infezione recente si consiglia un follow up di controllo a tempi brevi e di considerare una possibile infezione da Ulcus molle e di Herpes genitalis.
-	-	+	-	La presenza di anticorpi anti-lipoidi è indicativa di infezione attiva con Treponema. La presenza di isolati anticorpi anti-lipoidi può derivare anche da altre malattie infettive, malattie autoimmuni o in caso di gravidanza.
-	-	-	+	
-	-	+	+	
+	-	-	-	Indicativo di stadio molto precoce con Treponema.
+	-	+	-	Indicativo di stadio molto precoce di infezione con Treponema. La presenza aggiuntiva di anticorpi anti-lipoidi indica un'infezione attiva.
+	-	-	+	
+	-	+	+	
Treponema ViraBlot IgM	Treponema ViraBlot IgG	VDRL ViraBlot IgM	VDRL ViraBlot IgG	Interpretazione
+	+	-	-	Indicativo di infezione recente con Treponema. In base ai sintomi clinici, è indicativo anche di stadio secondario dell'infezione. Il titolo VDRL può essere rilevabile in alcuni casi di infezione attiva. In caso si sospetti un caso di sifilide congenita la positività delle IgM specifiche che della VDRL è indicativa di infezione del neonato. Le IgG possono viceversa essere trasmesse dalla madre.
+	+	+	-	
+	+	-	+	
+	+	+	+	
-	+	-	-	Indicativo di infezione pregressa o sieroprevalenza. Gli anticorpi IgG possono persistere per anni.
-	+	+	-	Indicativo di infezione con Treponema. La presenza aggiuntiva di anticorpi anti-lipoidi indica un'infezione che necessita terapia.
-	+	-	+	
-	+	+	+	



Infezione da Parvovirus B19.

Il parvovirus B19 è un virus a DNA con capsidico proteico icosaedrico. È responsabile del megaloeritema infettivo o quinta malattia: evento acuto caratterizzato da un esantema eritematoso a evoluzione centrifuga. Tale patologia si presenta in piccole epidemie invernali e primaverili, prevalentemente tra bambini di età scolare. Il contagio avviene per contatto con un periodo di incubazione da 4 a 17 giorni. La contagiosità permane per tutto il periodo della malattia. Questo agente può determinare un'infezione fetale transplacentare causata da una primo-infezione materna che può esitare in aborto spontaneo o idrope fetale. La trasmissione transplacentare sembra avvenire nel 25-30% delle infezioni acquisite in gravidanza, ma il danno fetale è osservato soltanto nel 5% dei casi, tale passaggio avviene in genere durante il secondo trimestre a differenza di altri virus, il parvovirus non ha potenzialità teratogena.

Diagnostica dell'infezione da parvovirus B19 in gravidanza.

L'infezione può essere evidenziata ricercando gli anticorpi specifici di classe IgG ed IgM nel siero. Queste determinazioni sieriche non permettono di individuare in maniera precisa l'epoca gestazionale dell'infezione acuta primaria.

L'infezione primaria da Parvovirus B19 viene

evidenziata dalla presenza di anticorpi IgM specifici, che si riscontrano circa 10 giorni dopo l'infezione.

L'interpretazione sierologica è basata sulla divisione della proteina strutturale VP1 in 2 segmenti, la presentazione separata degli epitopi lineari e conformazionali rileva lo stato d'infezione.

L'utilizzo di test di conferma per il Parvovirus B19 permette di discriminare lo stato d'infezione tra acuto e pregresso.

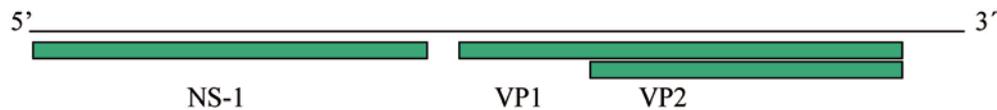
I test di conferma utilizzano antigeni ricombinanti altamente specifici con NS1, VP2, VP-N, VP-C, VP1S sia per le IgG che per le IgM.

A differenza del test ELISA questi test aggiungono informazioni circa lo stato d'infezione utilizzando la diversa reattività dei singoli antigeni e la determinazione dell'avidità degli stessi.

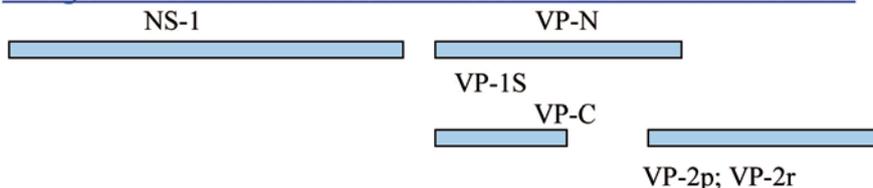
Il genoma del Parvovirus B19 codifica 2 proteine strutturali VP1 e VP2 e una proteina non strutturale NS1.

- > NS1 proteina non strutturale con funzione di regolazione, potrebbe essere indicativa di presenza del virus;
- > VP2 costituisce il 95% dell'involucro virale, particolarmente importante per l'identificazione precoce della malattia;
- > VP1 costituisce il 5% dell'involucro virale, la risposta immunitaria a questa proteina indica il termine della viremia.

Localizzazione e disposizione delle proteine del Parvovirus B19



Antigeni ricombinanti usati in *recomLine* Parvovirus B19



La determinazione dell'avidità degli anticorpi IgG può essere di supporto al processo diagnostico del Parvovirus B19, in particolare facilitando la differenziazione dell'infezione acuta da quella subacuta con persistenza di anticorpi IgM.

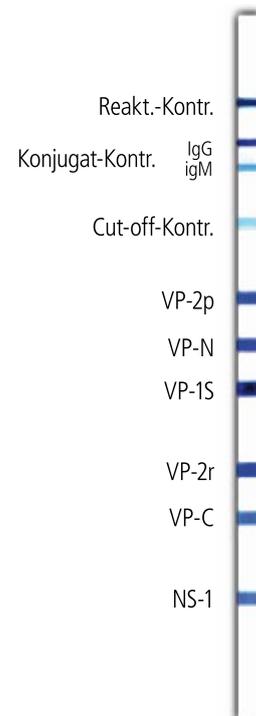
La VP2 è particolarmente importante per l'identificazione precoce della malattia, ma anche VP1 è essenziale per una diagnosi certa.

Sembra infatti che durante la malattia si sviluppino anticorpi contro VP1 i quali persistono a lungo.

E' utile associare VP1 e VP2 dal momento che durante l'infezione varia l'affinità anticorpale verso la proteina VP2.

In molti casi la determinazione dell'avidità delle IgG per specifici antigeni è in grado di definire lo stato attuale dell'infezione, in particolare differenziando l'infezione acuta da Parvovirus B19 dall'infezione subacuta con persistenza di anticorpi anti IgM. Gli anticorpi IgG contro VP2 sono solo determinabili nei primi mesi dopo l'infezione. L'alta avidità IgG contro VP1 e VP2 può solitamente escludere un'infezione avvenuta nelle passate 4/6 settimane.

La determinazione degli anticorpi contro NS1 può essere utile nell'identificazione dell'infezione persistente da Parvovirus B19.

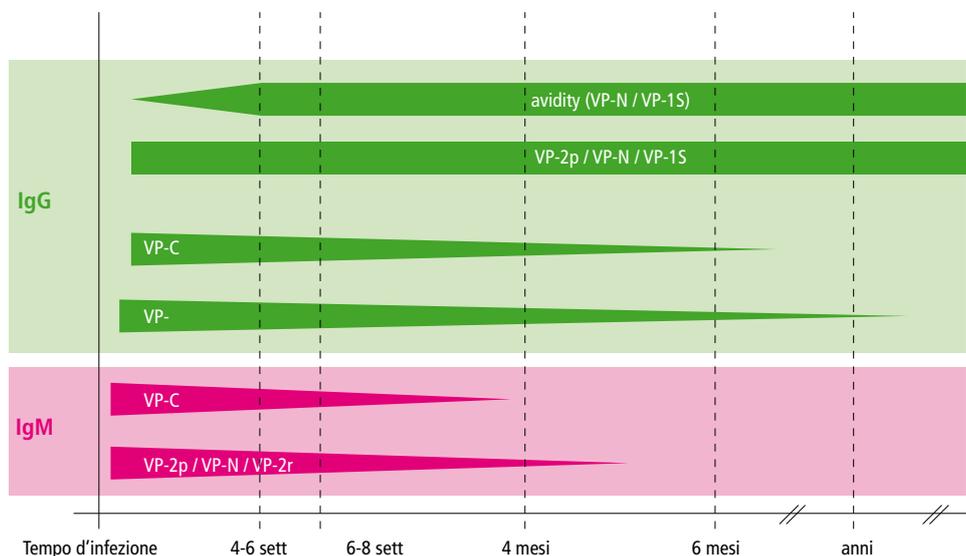


Interpretazione delle possibili reazioni sierologiche in Immunoblot delle IgG e IgM

IgG	IgM	Interpretazione
VP-2p, VP-N, VP-2r, VP-C (reattività debole)	VP-2p, VP-N (reattività evidente) VP-2r, VP-C (reattività da debole a evidente)	Infezione acuta Titolo IgG basso o assente
VP-2p, VP-N, VP-1S, VP-2r, VP-C (reattività evidente)	VP-2p, VP-N, VP-2r (reattività debole)	Stato dopo l'infezione (settimane o mesi) Con responso IgM ed IgG
VP-2p, VP-N, VP-2r, VP-C a volte con VP-1S (reattività evidente)	Negative o borderline	Infezione trascorsa da mesi
VP-2p e/o VP-N con VP-1S (reattività evidente) negativa: VP-2r e VP-C	Negative	Infezione trascorsa da anni
VP-2p, VP-N e VP-2r (reattività debole)	VP-2p, VP-N e/o VP-2r (possibile VP-1S) (reattività debole)	Infezione dubbia , possibili interferenze, il test deve essere ripetuto ad intervalli di tempo
VP-2p, VP-N, VP-1S (reattività debole) negative: VP-2r e VP-C	VP-N, VP-1S (reattività debole)	Infezione passata , IgG positive e reattività atipica delle IgM, probabile interferenza da fattore reumatoide, il test deve essere ripetuto ad intervalli di tempo

RecomLine Parvovirus B19 IgG [Avidity], IgM

Il pattern di reazione permette un' accurata determinazione dello status d'infezione



EPATITI

Le epatiti acute infettive sono determinate da differenti tipi di virus a tropismo epatico (A-B-C). Clinicamente asintomatiche nella maggior parte dei casi o correlate a sintomi aspecifici quali anoressia, nausea, vomito, mialgia, febbre, dolori in ipocondrio destro. Nei casi gravi si può presentare ittero con feci acoliche, urine ipercoliche ed insufficienza epatica acuta. Differente appare l'aggressività dei virus epatici nei confronti del prodotto del concepimento. Nelle tabelle successive si evidenziano le differenze di aggressività di tali agenti virali durante la gravidanza.

EPATITE A

- Virus a RNA a singola elica della famiglia di Picornavirus
- Trasmissione:
 - oro-fecale, facile diffusione nelle aree di stretto contatto (famiglie, istituti assistenziali, etc)
 - parenterale: estremamente rara, solo nel breve periodo della viremia
- Periodo di incubazione: 2-7 settimane
- La trasmissione dalla madre al neonato è pressochè impossibile (2 casi descritti)
- Esposizione perinatale: somministrazione di Ig specifiche

EPATITE B

- Epatnavirus a DNA
- Trasmissione: per via percutanea da sangue contaminato, trasmissione sessuale e verticale da madre a figlio
- Periodo di incubazione lungo (1- 6 mesi)
- Non esiste una terapia specifica, l'unico approccio terapeutico è la prevenzione tramite immunizzazione
- Lo stato di portatore cronico si sviluppa nel 10% degli infetti e può esitare in epatite cronica attiva, cirrosi e carcinoma epatocellulare
- La ricerca dell'HBsAg va effettuato in tutte le gravide

EPATITE B trasmissione perinatale

- Può essere diffuso per via transplacentare, ma la maggior parte dei neonati colpiti è esposta al momento del parto (madre HBsAg positiva o infettata nel terzo trimestre di gravidanza)
- Il neonato va accuratamente lavato non appena possibile per rimuovere le secrezioni
- Se la madre è HBeAg positiva, la possibilità di divenire portatore cronico per il neonato non sottoposto a profilassi adeguata* è del 70-90%

* Ig specifiche e I dose di vaccino entro 12 ore dalla nascita

EPATITE C

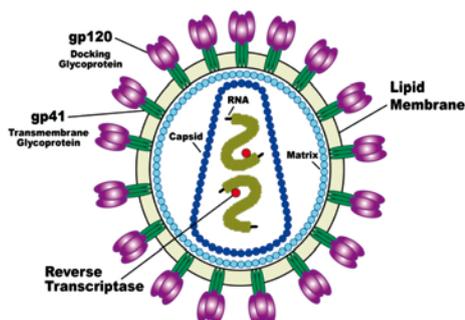
- Virus a RNA della famiglia dei Flavivirus
- Distribuzione ubiquitaria con prevalenza del 0.3-15%
- Fattori di rischio: uso di droghe, residenza in aree endemiche, trasfusione con emocomponenti
- In almeno il 35% dei pazienti infetti non riscontrabili fattori di rischio
- Trasmissione per via percutanea e/o mucosale o per vie non tradizionali (es. tatuaggi)

EPATITE C trasmissione perinatale

- Non è noto se il rischio di trasmissione è transplacentare, durante il parto o dopo la nascita tramite l' allattamento
- La percentuale di trasmissione dalla madre al lattante varia dal 5-50% in base agli studi considerati
- Il rischio di trasmissione verticale è più elevato se la madre è HIV positiva
- Tutti i neonati sono anti-HCV positivi alla nascita ma perdono gli anticorpi entro 6-12 mesi
- Non esiste trattamento per prevenire la trasmissione verticale

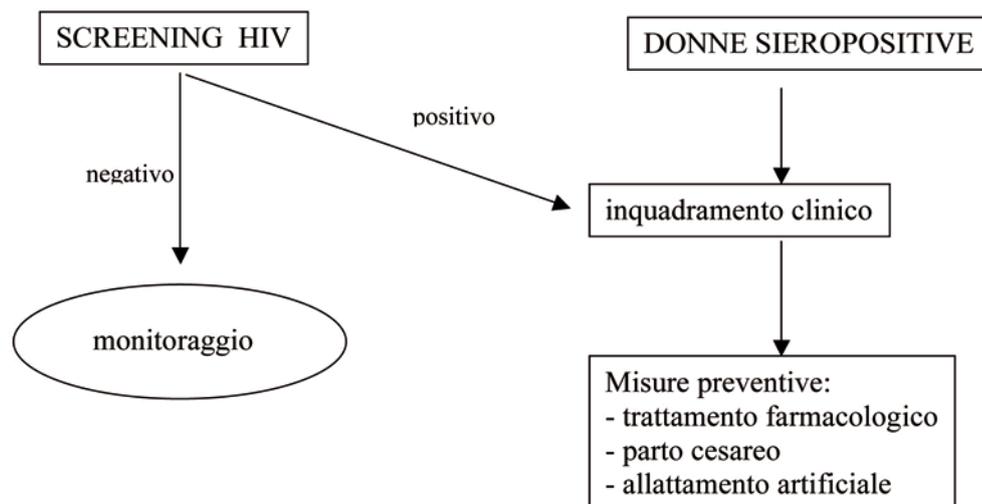
VIRUS HIV E GRAVIDANZA

Il virus HIV, scoperto dal francese Luc Montaigner nel 1983, è l'agente responsabile dell'AIDS (Sindrome da Immuno Deficienza Acquisita). Si tratta (fig.1) di un lentivirus ad RNA che possiede una transcriptasi inversa. L'infezione da HIV è una malattia a trasmissione sessuale che ha assunto dimensioni epidemiche nell'Africa sub-sahariana e nei paesi del terzo mondo. Nei paesi progrediti l'introduzione di farmaci antiretrovirali ha permesso di trasformare l'infettività da HIV in una patologia cronica.



Rappresentazione schematica del virus dell'immunodeficienza umana. L'RNA virale è trascritto in DNA dalla transcriptasi inversa, sovvertendo quindi il "dogma centrale" della biologia molecolare, vale a dire che il flusso dell'informazione genetica procede dal DNA all'RNA.

Il virus HIV ha possibilità di infettare il prodotto del concepimento mediante la via transplacentare, al momento del parto, e durante l'allattamento. L'evidenza maggiore indica che l'infezione si trasmette in misura maggiore al momento del parto. La frequenza di trasmissione varia tra il 7% e il 40% in relazione a numerosi fattori che sono rappresentati principalmente: dalle condizioni cliniche materne, dalla concomitante presenza di altre malattie sessualmente trasmesse, dalla modalità di espletamento del parto e dall'allattamento al seno. La strategia diagnostica in gravidanza prevede l'adozione del test di screening per l'HIV in tutte le gestanti, per individuare le donne sieropositive. L'individuazione di tali donne sieropositive, così come in quelle conosciute per tale positività, permette ai clinici di formulare delle strategie preventive che risultano tanto più efficaci quanto più precocemente attuate e che devono inquadrare lo stato clinico della gestante sieropositiva valutando le sottopopolazioni linfocitarie (CD4+), la carica virale, il complessivo stato dei metabolismi materni e la concomitante presenza di altre malattie infettive. Nelle donne sieropositive le misure preventive sono rappresentate: dal trattamento antiretrovirale, dall'adozione del parto cesareo e dall'adozione di un allattamento artificiale.



IL COMPLESSO TORCH

Aggiornamento tecnico scientifico

Dossier n.11 | Novembre 2008

Bibliografia

- 1) D. Paladini, T. Morra, T. Martinelli, C. Nappi:
Infezione a rischio malformativo fetale: rosolia, citomegalovirus e toxoplasmosi.
Prenatale Volume II 1998
- 2) A. Nardini, I. Fiorini:
Toxoplasmosi Caleidoscopio
- 3) T. Lazzarotto, L. Gabrielli, M.P. Landini:
Il citomegalovirus umano: aspetti biologici, patogenetici e di diagnosi dell'infezione nei pazienti immunocompetenti ed immunodepressi. (incontro di aggiornamento "Infezioni da Toxoplasma e da Citomegalovirus" Reggio Emilia, 21 febbraio 2003)
- 4) W. Buffolano, M. Stronati, F. Macagno:
Procedure operative standard per la diagnosi e la gestione clinica dei casi di rosolia congenita. (Ped. Med. Chir. (Med. Surg. Ped.), 2004, 26: 9-18)
- 5) G. Orso Giaccone, D. Zanella:
Il referto interpretativo in infettivologia. (RIMeL/JIaM 2005; 1 Suppl.)
- 6) K.I. Pfrepper, M. Enders, M. Motz
Human Parvovirus B19 Serology and Avidity Using a Combination of Recombinant Antigens Enables a Differentiated Picture of the Current State of Infection. (J. Vet. Med. B 52, 362-365 2005)
- 7) Mikrogen Forum
Parvovirus B19 The Importance of virus-like particles in antibody detection systems (Volume 5 – n° 18 – Agosto 2006)
- 8) A.J Vyse, N. J. Andrews, L.M. Hesketh, R. Pebody
The burden of Parvovirus B19 infection in woman of choldbearing age in England and Wales (Epidemiol. Infect., Page 1 of 9 2007)
- 9) Ivo de Carneri
Parassitologia generale e umana (Casa Editrice Ambrosiana Milano)
- 10)M. Moroni, R. Esposito, F. De Lalla
Malattie Infettive (Masson 2004)
- 11)'ARNIKA recomLine Toxoplasma IgG, IgM, IgA Test immunologico su strip basato su antigeni ricombinanti per la determinazione di anticorpi IgG, IgM o IgA contro Toxoplasma Gondii nel siero o nel plasma umano.
- 12) 'ARNIKA CMV IgC/IgM Western Blot Test Western Blot con antigeni ricombinanti per la determinazione degli anticorpi IgG o IgM contro Cytomegalovirus (CMV) nel siero o nel plasma umano.
- 13) 'ARNIKA ViraBlot Treponema + VDRL IgG / ViraBlot Treponema + VDRL IgM Test immunologico per la determinazione qualitativa degli anticorpi specifici IgG o IgM contro Treponema Pallidum e per la determinazione quantitativa degli anticorpi specifici IgG o IgM contro antigeni VDRL nel siero umano.
- 14) 'ARNIKA recomLine Parvovirus B19 IgG [Avidity] – IgM Test con antigeni ricombinanti per la determinazione degli anticorpi IgG o IgM e IgG Avidity, contro Parvovirus B19, nel siero o nel plasma umano.

