

RIAP

Organo Ufficiale della Società Italiana
di Allergologia e Immunologia Pediatrica



In questo numero:

editoriale

allergologia

Come riconoscere le reazioni di ipersensibilità a vaccini e proseguire le vaccinazioni

L'immunoterapia specifica: un modello di medicina di precisione. Luci ed ombre dei piani terapeutici

Diagnosi di allergia alle proteine del latte vaccino: le IgE specifiche e i cut-off diagnostici

epidemiologia

I vaccini MPR/V: uno strumento per raggiungere gli obiettivi OMS di eliminazione di morbillo e rosolia e di controllo di parotite e varicella

immunologia

**Infiammazione intestinale come segno di immunodeficienza
Nuove frontiere sui probiotici ed il loro utilizzo**

quattro 2016 ■ anno XXX

www.riaponline.it

PACINI
EDITORE
MEDICINA



Organo Ufficiale della Società Italiana
di Allergologia e Immunologia Pediatrica

RIAP

Rivista di Immunologia e Allergologia Pediatrica

Direttore Editoriale e Scientifico

Giampaolo Ricci

Co-Direttore Editoriale e Scientifico

Salvatore Barberi

Comitato di Redazione

Raffaele Badolato, Ahmad Kantar,
Massimo Landi, Alberto Martelli,
Diego Peroni, Caterina Rizzo

Direttore Responsabile

Patrizia Alma Pacini

CONSIGLIO DIRETTIVO SIAIP

Presidente

Marzia Duse

Vice Presidente

Michele Miraglia del Giudice

Past President

Roberto Bernardini

Tesoriere

Giuseppe Baviera

Consiglieri

Elena Galli, Ahmad Kantar,
Diego Peroni, Annarosa Soresina

Segretario

Enrico Properzi

Revisori dei conti

Elisa Anastasio, Lucia Caminiti

Edizione

Pacini Editore Srl
Via Gherardesca 1 • 56121 Pisa
Tel. 050 31 30 11 • Fax 050 31 30 300
info@pacineditore.it • www.pacinimedica.it

Marketing Dpt Pacini Editore Medicina

Andrea Tognelli
Medical Project - Marketing Director
Tel. 050 31 30 255 • atognelli@pacineditore.it

Fabio Poponcini
Sales Manager
Tel. 050 31 30 218 • fpoponcini@pacineditore.it

Alessandra Crosato
Junior Sales Manager
Tel. 050 31 30 239 • acrosato@pacineditore.it

Manuela Mori
Advertising Manager
Tel. 050 31 30 217 • mmori@pacineditore.it

Redazione

Lisa Andreazzi
Tel. 050 31 30 285 • landreazzi@pacineditore.it

Segreteria scientifica

Tel. 050 31 30 223 • redazione.riap@pacineditore.it

Grafica e impaginazione

Massimo Arcidiacono
Tel. 050 31 30 231 • marcidiacono@pacineditore.it

Stampa

Industrie Grafiche Pacini • Pisa

Copyright by Società Italiana di Allergologia e
Immunologia Pediatrica

INDICE quattro 2016

editoriale

G. Ricci, S. Barberi 2

allergologia

**Come riconoscere le reazioni
di ipersensibilità a vaccini e proseguire
le vaccinazioni**

a cura della Commissione Farmaci Latice della SIAIP 3

**L'immunoterapia specifica: un modello di
medicina di precisione. Luci ed ombre dei
piani terapeutici**

A cura della Commissione AIT della SIAIP 12

**Diagnosi di allergia alle proteine del
latte vaccino: le IgE specifiche e i cut-off
diagnostici**

A cura della Commissione Diagnostica Allergologica della SIAIP .. 15

epidemiologia

**I vaccini MPR/V: uno strumento per
raggiungere gli obiettivi OMS di
eliminazione di morbillo e rosolia e di
controllo di parotite e varicella**

M. Lo Giudice, G. Vitali Rosati 24

immunologia

**Infiammazione intestinale come segno
di immunodeficienza**

A. Tommasini et al. e Commissione di Immunologia della SIAIP . 33

**Nuove frontiere sui probiotici
ed il loro utilizzo**

A cura del Gruppo di Studio sul Microbiota della SIAIP 42



Seguici su www.facebook.com/pacinimedica

quattro 2016 ■ anno XXX

www.riaponline.it

**PACINI
EDITORE
MEDICINA**



Carissimi,
con questo numero si chiude il 2016, un anno in cui la nostra rivista ha pubblicato numerosi lavori di grande interesse pratico frutto del lavoro delle Commissioni (sono ancora quelli del precedente triennio) della nostra società.

In primo luogo grazie ai Responsabili di Commissione che hanno, insieme con i colleghi componenti, portato avanti un impegno scientifico rilevante.

Abbiamo tuttavia sentito la necessità di rinnovare la rivista dando spazio a contributi, anche da parte dei giovani ricercatori che sono il motore della nostra società e non solo.

Abbiamo inserito la rubrica casi clinici, destinata non solo ai più giovani e ... la sorpresa nel primo numero del prossimo anno.

I contributi di molte pagine verranno pubblicati solo online; per questo esortiamo gli Autori a consultare le nuove norme redazionali già presenti sul sito della rivista: www.riaponline.it.

In questo numero sono presenti alcuni articoli di particolare attualità: sui media si parla quotidianamente di vaccinazioni; spesso dobbiamo rispondere al quesito sulla opportunità di proseguire le vaccinazioni dopo la comparsa di una reazione ad una precedente somministrazione. Ecco la risposta del gruppo coordinato da Carlo Caffarelli: *Come riconoscere le reazioni di ipersensibilità a vaccini e proseguire le vaccinazioni*.

Sempre sul tema vaccinazioni cerchiamo di guardare al futuro: quali sono gli obiettivi che dobbiamo porci in linea con la Organizzazione Mondiale della Sanità: gli epidemiologi Milena Lo Giudice e Giovanni Vitali Rosati fanno il punto in merito alla eradicazione di morbillo e rosolia e per il controllo di parotite e varicella.

La allergia alle proteine del latte vaccino continua ad essere una delle manifestazioni più frequenti nei primi anni di vita ed il percorso diagnostico-terapeutico è ancora oggi frutto di discussione tra esperti ricercatori e clinici. Un update sulla diagnostica è proposta dal lavoro della precedente Commissione Diagnostica Allergologica Coordinata da Mauro Calvani.

Vorremmo menzionare tutti i lavori sia di questo che dei numeri precedenti del 2016, perché tutti hanno contribuito a migliorare le nostre conoscenze scientifiche; un ringraziamento particolare vorremmo però riservarlo ai giovani che grazie ai loro contributi ed al loro spazio dedicato ci permettono di intravedere un futuro roseo per loro e per la nostra società.

Un augurio di un sereno Natale e di un Felice 2017 da parte di tutta la Redazione RIAP.

Giampaolo e Salvatore



Come riconoscere le reazioni di ipersensibilità a vaccini e proseguire le vaccinazioni

a cura della Commissione
Farmaci Latice della SIAIP

Fabrizio Franceschini¹
Paolo Bottau²
Silvia Caimmi³
Giuseppe Crisafulli⁴
Lucia Liotti⁵
Diego Peroni⁶
Francesca Saretta⁷
Mario Vernich⁸
Carlo Caffarelli⁹ (coordinatore)

¹ UOC Pediatria, Azienda Ospedaliero-Universitaria "Ospedali Riuniti", Ancona; ² UOC Pediatria, Ospedale di Imola; ³ Clinica Pediatrica, Fondazione IRCCS-Policlinico San Matteo, Pavia; ⁴ UO Allergologia, Dipartimento di Pediatria, Università di Messina; ⁵ UOC di Pediatria, Ospedale di Senigallia; ⁶ Clinica Pediatrica, Dipartimento di Pediatria, Università di Ferrara; ⁷ UOC di Pediatria, Ospedale di Palmanova; ⁸ UOC Pediatria, Ospedale di Bollate, Milano; ⁹ Clinica Pediatrica, Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università di Parma

Parole chiave:
**allergia a vaccini,
prevenzione, antigeni
vaccinali**

Corrispondenza

Carlo Caffarelli
Università di Parma
E-mail: carlo.caffarelli@unipr.it

Abstract

Le reazioni a vaccinazioni rappresentano eventi di non raro riscontro, e costituiscono motivo di ansia e preoccupazione nei genitori, al punto da scoraggiare spesso la continuazione del programma vaccinale. Anche se solo una piccola parte delle reazioni a vaccini sono costituite da reazioni di ipersensibilità, è importante il loro pronto riconoscimento attraverso una corretta diagnostica allergologica. Solo così sarà possibile mettere il bambino nelle migliori condizioni di sicurezza per le vaccinazioni successive. Anche in caso di allergia a un vaccino, nella maggior parte dei casi è possibile la normale prosecuzione del calendario vaccinale, purché le successive vaccinazioni siano eseguite con le giuste modalità e in strutture idoneamente attrezzate.

Introduzione

Le vaccinazioni rappresentano uno dei più importanti interventi di sanità pubblica e grazie a esse si è ottenuta la scomparsa o la drastica diminuzione di molte gravissime malattie. È quindi necessario nel caso compaiano reazioni di ipersensibilità ai vaccini che in ogni bambino si faccia il possibile per poter portare a termine il programma vaccinale, in condizioni di sicurezza.

Le reazioni di ipersensibilità ai vaccini sono rare (1 ogni 1.000.000 di dosi) ma multiformi e possono entrare in diagnosi differenziale con vari quadri clinici. Sebbene nessuna reazione fatale post-vaccinale sia stata segnalata in letteratura ¹, la possibilità di reazioni allergiche gravi impone che in ogni ambulatorio dove si eseguono vaccinazioni siano presenti attrezzature di primo soccorso.

In caso di reazioni post vaccinali, in particolare se immediate, il medico vaccinatore dovrebbe redigere una relazione scritta, contenente dati essenziali come la dettagliata descrizione della reazione, il tempo di insorgenza dopo la somministrazione del vaccino, il tipo e la composizione del vaccino utilizzato, la dose praticata. È consigliabile che il medico vaccinatore abbia un allergologo di riferimento, con cui confrontarsi e a cui inviare il bambino per l'eventuale work up allergologico.

I bambini che hanno presentato una reazione allergica post vaccinale andrebbero attentamente studiati in ambito allergologico prima di proseguire con le vaccinazioni, per stabilire il livello del rischio e per eseguire le dosi successive nelle corrette modalità. Si tratta di una valutazione specialistica, da eseguire in centri di allergologia.

Riconoscimento delle reazioni di ipersensibilità a vaccini

Le reazioni di ipersensibilità ai vaccini appartengono al tipo B delle reazioni avverse a farmaci; sono cioè caratterizzate da segni e sintomi oggettivabili, riproducibili e inaspettati, che iniziano dopo l'esposizione a un determinato agente a un dosaggio normalmente tollerato nella popolazione generale.

In base al tempo di insorgenza vengono distinte in immediate e tardive.

Le *reazioni immediate* post vaccinali insorgono entro poche ore dalla somministrazione del vaccino e suggeriscono un meccanismo IgE mediato. In molti casi l'allergia al componente allergizzante è nota ma possono anche presentarsi in bambini senza alcuna allergia accertata.

Tra le reazioni, le reazioni anafilattiche compaiono tipicamente entro pochi minuti, generalmente fino a un'ora dopo la somministrazione del vaccino. Le altre reazioni IgE mediate possono insorgere fino a quattro ore dopo^{8,27}. Le manifestazioni pseudoallergiche non IgE mediate insorgono anche in tempi superiori, sono eccezionalmente descritte, e sono tipicamente caratterizzate dall'insorgenza di orticaria e dall'angioedema³.

Le reazioni allergiche mediate dalle IgE possono presentarsi con quadri clinici differenti:

- **Sintomi cutanei:** eritema, prurito, edema, angioedema del volto e della bocca, orticaria. L'orticaria è presente nel 90% dei casi, è accompagnata da prurito severo, solitamente compare nei primi 30 minuti e scompare dopo alcune ore. La comparsa dall'orticaria dopo somministrazione di tossoide tetanico sembra essere associata a ripetute somministrazioni. In uno studio è stato rilevato che in 4 bambini che hanno sviluppato orticaria dopo la somministrazione di vaccino contenente tossoide tetanico, gli anticorpi IgE ed IgG persistevano per almeno 5 anni²².
- **Sintomi intestinali o respiratori**²: tra i sintomi respiratori ricordiamo: congestione nasale, starnuti, stridore, difficoltà a respirare e/o deglutire per angioedema dell'ipofaringe, dell'epiglottide, del laringe e dispnea con respiro sibilante. Tra i sintomi gastrointestinali: nausea, vomito, diarrea, crampi addominali.

- **Altri sintomi** possono essere: cardiovascolari (tachicardia, ipotensione grave fino allo stato di shock) o neurologici (disturbi psichici e sensoriali, convulsioni, vertigini, incontinenza, perdita di coscienza). La manifestazione clinica più drammatica di una reazione allergica immediata è l'anafilassi che richiede un riconoscimento rapido e un trattamento adeguato. L'anafilassi dopo vaccinazione rappresenta una manifestazione grave ma di raro riscontro, con prevalenza di 1-10 casi per milione di dosi somministrate, che varia in relazione al tipo di vaccino considerato³.

La *diagnosi di anafilassi* è altamente probabile in una di queste tre condizioni⁴:

1. Insorgenza acuta di sintomi cutanei e/o mucosi (orticaria, eritema, prurito, angioedema) associata ad almeno uno dei seguenti:
 - compromissione respiratoria (dispnea, broncospasmo, stridore, riduzione del picco di flusso espiratorio, ipossiemia);
 - riduzione della pressione arteriosa o sintomi di disfunzione d'organo (collasso, sincope, incontinenza).
2. Due o più delle seguenti situazioni che si verificano rapidamente dopo l'esposizione a un probabile allergene per quel paziente (da minuti ad alcune ore):
 - interessamento cute e mucose (come sopra);
 - compromissione respiratoria (come sopra);
 - riduzione pressione arteriosa o sintomi associati (come sopra);
 - sintomi gastrointestinali persistenti (dolori addominali crampiformi, vomito);
3. Una riduzione della pressione sistolica (PS) dopo esposizione a un allergene conosciuto per quel paziente (da minuti ad alcune ore):
 - nei lattanti e nei bambini: bassa PS (per l'età*) o diminuzione di oltre il 30% della PS;
 - adulti: PS inferiore a 90 mmHg o riduzione di oltre il 30% della pressione basale*.

Tale definizione si adatta poco all'anafilassi da vaccino, in quanto non considera né la gravità né le differenti modalità con cui la reazione anafilattica post vaccinica si può manifestare. Inoltre il termine allergene "conosciuto" o "probabile" mal si adattano alle reazioni allergiche da vaccino, che insorgono spesso

* una bassa pressione sistolica è definita come inferiore a 70 mmHg da un mese a un anno di età; 70 mmHg + età per 2, da 1 a 10 anni, successivamente inferiore a 90 mmHg.

Tabella I. Criteri clinici per la diagnosi di anafilassi post vaccinale (da Ruggeberg et al., 2007⁵, mod.).

Per tutti i livelli di evidenza	
L'anafilassi è una sindrome clinica caratterizzata da rapida insorgenza + rapida progressione + coinvolgimento multiplo di organi e apparati (≥ 2)	
Livello di evidenza 1 ≥ 1 CM dermatologico + ≥ 1 CM cardiovascolare E/O ≥ 1 CM respiratorio	
Livello di evidenza 2 ≥ 1 CM cardiovascolare + ≥ 1 CM respiratorio oppure ≥ 1 CM cardiovascolare O ≥ 1 CM respiratorio + ≥ 1 Cm coinvolgente ≥ 1 sistema differente da questi oppure ≥ 1 CM dermatologico + ≥ 1 Cm cardiovascolare E/O Cm respiratorio	
Livello di evidenza 3 ≥ 1 Cm cardiovascolare O respiratorio + ≥ 1 Cm coinvolgente ≥ 2 differenti apparati	
Criteri maggiori (CM)	Criteri minori (Cm)
<i>Dermatologici/mucosi</i> – orticaria o eritema generalizzati – angioedema localizzato o generalizzato – prurito generalizzato con rash cutaneo	<i>Dermatologici/mucosi</i> – prurito generalizzato senza rash cutaneo – sensazione di formicolio generalizzato – orticaria nel sito di iniezione – occhi arrossati e prurito oculare
<i>Cardiovascolari</i> – ipotensione – shock scompensato, indicato dalla combinazione di almeno 3 dei seguenti sintomi: tachicardia, refill capillare > 3 sec, riduzione del polso, alterazioni o perdita di coscienza	<i>Cardiovascolari</i> – riduzione del circolo periferico come indicato dalla combinazione di almeno 2 dei seguenti sintomi: tachicardia, refill capillare > 3 secondi senza ipotensione, livello di coscienza diminuito
<i>Respiratori</i> – wheezing bilaterale – stridore – edema prime vie aeree (labbra, lingua, gola, ugola, laringe) – distress respiratorio, indicato da 2 o più dei seguenti sintomi: tachipnea, impegno dei muscoli accessori, cianosi, rientramenti, gemito	<i>Respiratori</i> – tosse secca persistente – voce roca – difficoltà respiratoria senza wheezing o stridore – sensazione di "chiusura" alla gola – starnuti, rinorrea
	<i>Gastrointestinali</i> – diarrea – dolore addominale – nausea – vomito
	<i>Laboratoristici</i> – elevazione della triptasi mastocitaria

senza la conoscenza dell'allergene causale. È stato pertanto elaborato un protocollo diagnostico specifico per l'anafilassi da vaccini (Tab. I)⁵.

Tra le reazioni immediate da vaccino le reazioni IgE mediate (allergiche) devono essere distinte dalle pseudo allergiche, dovute alla liberazione aspecifica di istamina e frequenti negli atopici. Tali reazioni, anche se generalmente sono meno gravi delle IgE mediate, non sono distinguibili clinicamente dalle allergiche e a volte consistono in una "riattivazione" (*flash*) della patologia di base del paziente (ad esempio la riesa-

cerbazione di rinite, asma, orticaria)⁶. Le reazioni di ipersensibilità a vaccini (allergiche o pseudo allergiche) devono essere differenziate da altri eventi avversi a rapida insorgenza, molto frequenti, che si manifestano con una sintomatologia facilmente confondibile con quella delle reazioni allergiche. Tali eventi sono principalmente i seguenti:

- *spasmi respiratori (o affettivi)*: sono episodi tipici nei lattanti e bambini piccoli (si verificano nel 5% dei bambini tra 6 mesi e 5 anni), di solito scatenati da uno spavento, un accesso di rabbia, un capric-

cio, un dolore. Consistono nella comparsa, dopo una fase più o meno lunga di pianto intenso, di una crisi di apnea con associati sintomi quali rossore del viso e/o cianosi periorale. In alcuni bambini possono essere associati a breve perdita di coscienza, irrigidimento con opistotono, mioclonie isolate. La crisi si risolve spontaneamente in pochi minuti;

- *crisi di ansia*: possono osservarsi a qualsiasi età. I sintomi possono essere vari: più spesso il bambino diviene pallido, presenta sudorazione profusa, riferisce stordimento, vertigini, nodo alla gola, tremori diffusi, tachicardia e/o palpazioni, ottundimento del sensorio, è spesso presente iperventilazione. Può esserci sensazione di mancanza di respiro con/senza dolore toracico, flushing. I sintomi sono in genere autolimitanti (10'-20'). In questo caso sono assenti alcuni sintomi tipici dell'anafilassi come: l'orticaria/angioedema, l'ipotensione, il respiro sibilante;
- *reazioni vaso-vagali*: episodi caratterizzati da dolore, ipersudorazione, ipotensione, senso di vertigine, e spesso anche breve perdita di coscienza. La reazione è causata dallo stimolo doloroso dell'iniezione che scatena una reazione vaso-vagale. In alcuni casi lo svenimento si accompagna a movimenti tonico-clonici, in genere agli arti. Il polso è sempre presente, anche se debole e bradicardico. La respirazione è spesso rallentata e possono essere presenti apnee di pochi secondi. L'episodio può causare caduta con conseguente trauma;
- *ipotonia-iporesponsività*: consiste nella diminuzione o nella perdita acuta del tono muscolare, accompagnata da pallore o cianosi, mancata risposta agli stimoli ambientali o torpore prolungato. Può essere preceduta da irritabilità o febbre. Si verifica 1-24 ore dopo la vaccinazione, eccezionalmente dopo pochi minuti.

Le reazioni di *ipersensibilità ritardata* da vaccino sono solitamente localizzate nel sito di inoculo.

L'alluminio, il thiomerosal, gli agenti antimicrobici, il fenossietanolo e la formaldeide sono stati chiamati in causa come possibili agenti eziologici di reazioni tardive post vaccinali.

Alcune reazioni locali agli antigeni vaccinali sono dovute a iperimmunizzazione, in quanto la loro frequenza correla con il numero delle somministrazioni del vaccino e con il livello degli anticorpi protettivi nel siero. Si tratta di reazioni di tipo Arthus, mediate da

immuno-complessi, che insorgono entro 2-8 ore, raggiungono il picco dopo 12-36 ore e scompaiono in pochi giorni²⁰. La vaccinazione difterite-tetano-pertosse (DTP) rappresenta la causa più frequente nel bambino, in età adulta prevale la vaccinazione anti-pneumococcica 23 valente²¹.

La maggior parte delle reazioni locali agli antigeni vaccinali sono caratterizzate da dolore, desquamazione cutanea, indurimento nella sede dell'iniezione. Un'ipersensibilità verso l'alluminio è stata associata alla insorgenza di noduli pruriginosi persistenti (presenti anche per mesi) o alla formazione di granulomi nella sede dell'iniezione⁸. Tutte le reazioni locali non controindicano successive somministrazioni del vaccino.

La maggioranza delle reazioni tardive generalizzate è caratterizzata da orticaria tardiva, esantema maculopapulare ed eritema multiforme^{27 35}. Seppur raramente possono verificarsi artralgie, artriti, reazioni tipo "malattia da siero", porpora di Shoenlein Henoch, e altre manifestazioni ematologiche, renali, e gastrointestinali^{27 35}.

Il work up allergologico

Nel caso di bambino con storia clinica suggestiva per reazione allergica a una vaccinazione, all'anamnesi va chiarito in primo luogo il tipo e la gravità della reazione, se localizzata o generalizzata. Va indagato il tempo intercorso tra la somministrazione del vaccino e l'inizio della sintomatologia clinica, per discernere tra le reazioni immediate da quelle ritardate^{8 9}.

Componenti vaccinali

Nei vaccini sono contenute diverse sostanze potenzialmente allergizzanti, come quelle derivanti dal terreno di coltura, gli additivi (preservanti, stabilizzanti, agenti antimicrobici, adiuvanti) o le sostanze contaminanti^{10 11}. Si tratta di soggetti con allergia a uovo, latte vaccino, *Saccharomyces cerevisiae*, antibiotici, gelatina, lattice che dovrebbero essere identificati prima di procedere alla vaccinazione.

In caso di reazione vaccinale il primo passo da compiere è quindi quello di verificare anamnesticamente se è stata trascurata una verosimile allergia a un componente del vaccino in causa, e successivamente il sospetto dovrà essere confermato mediante l'esecuzione di test allergologici come i tests cutanei (prick test, intradermoreazioni), o il dosaggio delle

Tabella II. Tests cutanei e in vitro per componenti di vaccini specifici * (da Ponvert et al., 2010¹⁹, mod.).

Vaccino	Tests cutanei	IgE specifiche
DtaP	DTaP, DT, tossoide tetanico, gelatina	Gelatina
DT	DT, tossoide tetanico	
Tdap	DTaP, DT, tossoide tetanico	
Epatite A	Epatite A	
Epatite B	Epatite B, lievito	Lievito
HiB	HIB	
HPV	HPV, lievito	Lievito
Influenza	Influenza, uovo, gelatina	Uovo, gelatina
MCV	MCV	
MMR	MMR, morbillo, rosolia, varicella, uovo, gelatina	Uovo, gelatina
MMR-V	MMR-V, uovo, gelatina	Uovo, gelatina
IPV	IPV	
OPV	Latte	Latte
PCV-13	PCV13, lievito	Lievito
PS-23	Pneumovax 23	
Varicella/Zoster	Varicella, gelatina	Gelatina
Febbre gialla	Febbre gialla, uovo, gelatina	Uovo, gelatina

DtaP = vaccino anti difterico-tetanico-pertosse acellulare; DT = vaccino anti difterico-tetanico; Tdap = vaccino anti difterico-tetanico-pertosse acellulare per adulti; HPV = vaccino anti papilloma virus; MCV = vaccino antimeningococcico; MMR = vaccino anti morbillo-rosolia-parotite; MMR-V = vaccino anti morbillo rosolia-parotite-varicella; IPV = vaccino antipolio inattivato; PCV-7 = vaccino antipneumococcico eptavalente; PS-23 = vaccino anti pneumococcico polisaccaride 23 valente

* Va eseguita diagnostica per il lattice (prick test, IgE specifiche sieriche) per i vaccini nella cui confezione è contenuto tale allergene.

IgE specifiche verso componenti vaccinali (Tab. II) e quando necessario mediante test di provocazione¹². Il corretto iter diagnostico da seguire è sintetizzato nella Fig. 1¹³⁻¹⁵.

Principio attivo

Le reazioni di ipersensibilità ad antigeni vaccinali sono rappresentate da reazioni locali nel 13% dei casi e sistemiche nello 0,2% dei casi¹⁸.

La maggior parte delle reazioni agli antigeni vaccinali si verifica nei riguardi dei tossoidi difterico (TD) e tetanico (TT); si tratta di antigeni proteici, costituiti da proteine modificate. Il tipo e l'entità di tali modifiche differiscono a seconda dei processi industriali necessari per la preparazione del vaccino e pertanto possono variare a seconda della casa produttrice. La risposta immunitaria nei confronti di tali antigeni, oltre che essere di tipo IgG mediato (e quindi protettiva), può in alcuni casi essere anche di tipo IgE mediato (e quindi allergica)¹⁶⁻¹⁷.

Le reazioni sistemiche ad antigeni vaccinali sono molto rare (0,001% delle somministrazioni di tossoide tetanico)²² e nella maggior parte dei casi essendo reazioni anafilattoidi i test IgE, peraltro non disponibili per la routine, risultano negativi. Solo pochi studi hanno evidenziato la presenza di prick test positivi e IgE specifiche per il tossoide tetanico²³ o di co-sensibilizzazione per i tossoidi tetanico e difterico²⁴.

L'immunizzazione con il vaccino antipneumococcico eptavalente può indurre una sensibilizzazione IgE mediata verso polisaccaridi o poliosidi pneumococcici che possono provocare anafilassi dopo somministrazione del vaccino antipneumococcico 23-valente. Lo skin test con il vaccino, prick non diluito seguito da i.d. 0,02 ml diluito 1/100, può avere una buona capacità diagnostica¹⁹.

Non è necessario eseguire accertamenti in caso di reazioni locali. Neppure il patch test è utile per la diagnosi delle reazioni ritardate vaccinali¹³.

I tests allergologici con il vaccino sospetto

Nel caso in cui il costituente vaccinale in causa non sia stato identificato, o per la negatività dei test eseguiti o per la mancata disponibilità di test specifici, prima della prosecuzione delle vaccinazioni è consigliabile l'esecuzione di tests cutanei (prick e intradermoreazioni) con il vaccino stesso. Tale procedura si rende necessaria nell'ipotesi di ipersensibilità a un costituente vaccinale non identificabile. I tests cutanei con i vaccini rappresentano una metodica consigliata in letteratura ma non ancora standardizzata, pertanto non ancora scientificamente validata. Vanno eseguiti utilizzando i preparati commerciali, possibilmente della stessa casa produttrice di quella che ha causato la sospetta reazione.

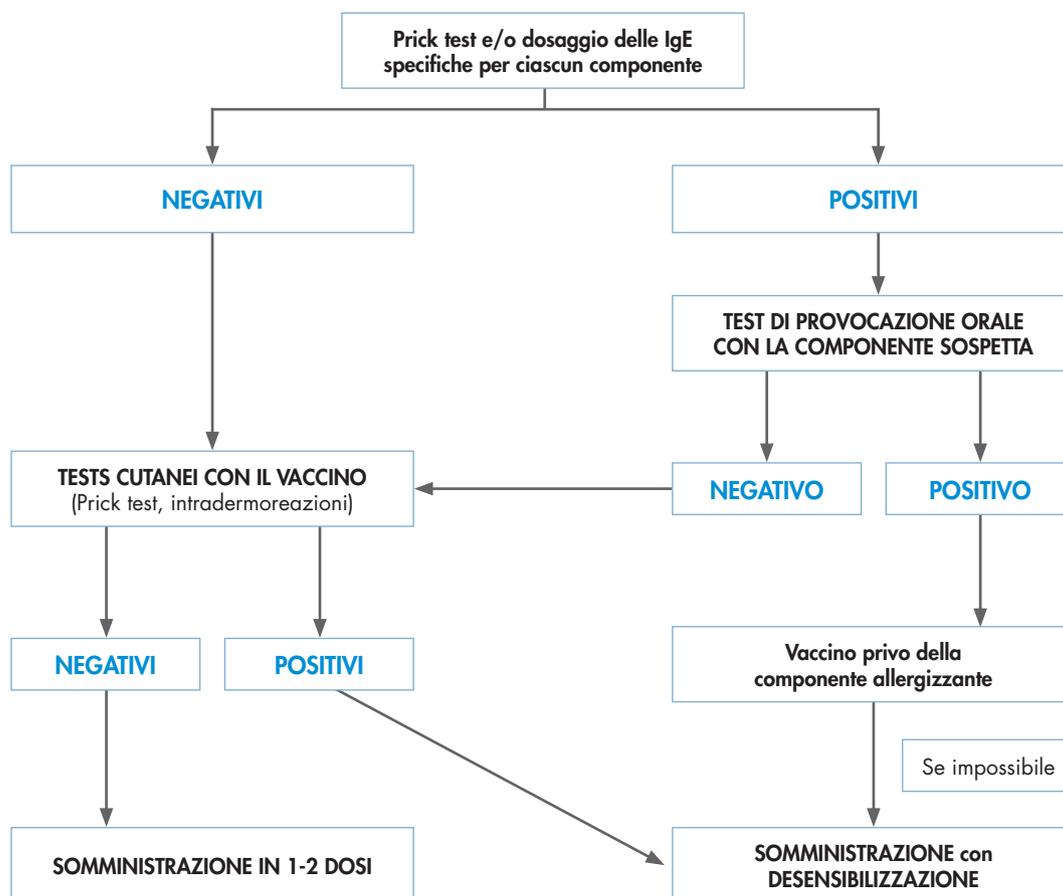


Figura 1. Gestione del bambino con sospetta reazione allergica a una precedente vaccinazione, con livelli di anticorpi non protettivi (da Barbaud et al., 2013 ⁶, mod.).

ne allergica. Ogni test cutaneo deve essere eseguito insieme al controllo positivo (istamina) e negativo (solvente). Inizialmente il vaccino va testato con il prick test, iniziando con diluizione 1:10 o superiore nel caso in cui nell'anamnesi siano presenti reazioni gravi (anafilassi); in tutti gli altri casi il prick test va eseguito con il vaccino non diluito ²⁷.

In caso di negatività del prick test si procede con i tests intradermici, con diluizione 1:100. In caso di negatività di questo test è da alcuni Autori consigliata la diluizione 1:10, anche se per molti vaccini (in particolare per gli antinfluenzali) tale diluizione è irritativa e può pertanto causare false positività ²⁸. La intradermoreazione con il vaccino indiluito è sconsigliata. Il risultato dei tests cutanei va tenuto in considerazione, insieme

ai dati anamnestici, al fine di decidere la modalità di somministrazione del vaccino (Fig. 1).

Come rivaccinare

Nel caso di reazione di ipersensibilità di tipo ritardato l'approccio alle successive vaccinazioni dipende essenzialmente dalla natura e gravità della pregressa reazione vaccinale. Nelle reazioni ritardate locali, il bambino può continuare a ricevere le vaccinazioni nelle modalità normali senza problemi ⁸. Le reazioni ritardate gravi da vaccini rappresentano eventi rarissimi, di cui non sono riportati casi in letteratura: sono rappresentati da dermatiti bollose (S. di Steven Johnson, Necrolisi epidermica tossica) e controindicano la prosecuzione delle vaccinazioni.

Nel caso di sospetta reazione di ipersensibilità di tipo

immediato una volta eseguiti i tests per i componenti vaccinali e con il vaccino stesso, il comportamento successivo viene deciso associando i dati anamnestici ai risultati dei tests effettuati:

- *nel caso i tests allergologici eseguiti siano negativi* va considerata la storia di anafilassi. Se non c'è storia di anafilassi il vaccino può essere somministrato in un'unica dose, tenendo in osservazione il paziente per almeno 60 minuti ²¹. Se invece esiste storia di anafilassi (non necessariamente da vaccino) è consigliabile la somministrazione in 2 dosi: alla prima dose (corrispondente al 10% della dose totale) segue un periodo di osservazione di 30 minuti. Se non compaiono sintomi di ipersensibilità viene somministrata la dose rimanente (corrispondente al restante 90%) e il bambino va tenuto in osservazione per un'ora ^{13 28};
 - *nel caso in cui i tests allergologici (con il vaccino o con componenti dello stesso) siano risultati positivi* il bambino va considerato allergico a quel vaccino o a quel componente e occorre trovare in ogni singolo paziente la corretta modalità di prosecuzione con le vaccinazioni, eseguendo alcune valutazioni:
 - *nel caso in cui siano state somministrate dosi precedenti dello stesso vaccino può essere valutato lo stato immunitario del bambino* per l'antigene per cui si vaccina, in quanto le dosi precedenti possono avere determinato una sufficiente immunizzazione, tale da non rendere necessaria una ulteriore somministrazione, anche al fine di ridurre il rischio di reazioni post-vaccinali. I livelli delle IgG protettivi per le varie infezioni oggetto di vaccinazione sono riportate in Tabella III ²⁷;
 - *in altre circostanze può essere disponibile un vaccino analogo a quello somministrato come com-*
- posizione antigenica ma privo della componente vaccinale allergizzante:* in questo caso il bambino può eseguire la vaccinazione col vaccino alternativo nell'ambulatorio vaccinale. A questo proposito è bene ricordare che esiste intercambiabilità tra le preparazioni dei vaccini inseriti nel protocollo dell'infanzia (quali DTPa, Hib, epatite B, polio, morbillo-parotite-rosolia);
- *nel caso in cui non ci sia un vaccino privo della componente allergizzante* (perché i componenti sono presenti nelle preparazioni di diverse ditte farmaceutiche o perché l'antigene che ha causato la reazione allergica è proprio il costituente contro cui si vuole ottenere l'immunizzazione) e *lo stato immunitario del bambino non sia sufficientemente protettivo*, è necessario proseguire la vaccinazione con la metodica della desensibilizzazione. Tale procedura si rende necessaria per non privare il bambino dell'opportunità di essere protetto dalla malattia infettiva ¹⁴. Mediante la somministrazione sequenziale di dosi sempre crescenti del vaccino la desensibilizzazione permette di ottenere il passaggio da una condizione di alta sensibilità a una situazione di tollerabilità. La desensibilizzazione richiede il consenso informato da parte dei genitori. Esistono diversi protocolli, che prevedono la somministrazione di dosi di vaccino a concentrazioni crescenti, ogni 15-30 minuti (o più se la reazione era stata osservata in un intervallo di tempo maggiore dopo la somministrazione del vaccino) (Tab. IV) ²⁹. La differenza nella durata dei diversi protocolli dipende essenzialmente dalla diluizione iniziale: quanto maggiore è questa tanto più numerose saranno le dosi da somministrare per raggiungere la dose completa del vaccino. Generalmente la dose

Tabella III. Livelli anticorpali protettivi per malattie prevenibili tramite vaccinazione (da Bernstein et al., 2008 ¹⁵, mod.).

Vaccino	Livelli protettivi IgG
Difterite	≥ 0,1 IU/ml
Haemophilus influenzae B	≥ 0,15 µg/ml
Epatite A	≥ 10 mIU/ml
Epatite B (anti HBs)	≥ 10 mIU/ml
Morbillo	≥ 120 anticorpi neutralizzanti (PNR)
Polio (inattivato)	≥ 1:8 anticorpi neutralizzanti
Rabbia	≥ 0,5 IU anticorpi neutralizzanti (VNA)
Rosolia	≥ 10 IU/ml
Tetano	≥ 0,1 IU/ml
Febbre gialla	≥ 0,7 IU/ml

PNR: *Plaque Reduction Neutralization*; VNA: *Virus Neutralizing Antibodies*

Tabella IV. Protocollo di somministrazione/desensibilizzazione per vaccini (da O'Hagan et al., 2004¹⁶, mod.).

Dose	Diluizione
0,05 ml	1:10
0,05 ml	ND
0,1 ml	ND
0,15 ml	ND
0,2 ml	ND

ND = Non diluito

Le dosi vanno somministrate sottocute a 15 minuti di intervallo;
Per i vaccini in cui la dose da somministrare è di 1 ml, somministrare la dose cumulativa restante (0,5 ml) a 15 minuti dall'ultima dose.

somministrata ogni volta è due-dieci volte superiore rispetto a quella tollerata nella somministrazione

precedente. Il raggiungimento della dose totale del vaccino può quindi necessitare un periodo di tempo anche di diverse ore³⁰⁻³⁴. La desensibilizzazione al vaccino deve essere eseguita con molta cautela e in ambiente protetto e deve essere effettuata da personale esperto.

Le complicanze in corso di desensibilizzazione sono presenti in circa un terzo dei soggetti e sono caratterizzate da eruzioni e/o prurito cutaneo; in tal caso non è necessario interrompere la procedura ma si potrà "correggere" il protocollo tramite un allungamento degli intervalli tra le somministrazioni del vaccino e/o una diminuzione della dose successiva e/o la somministrazione di farmaci. Nella maggior parte dei casi con questi aggiustamenti si potrà proseguire la procedura riducendo quasi al minimo la possibilità di comparsa di reazioni gravi.

Bibliografia

- Erlewyn-Lajeunesse M. Recommendations for the administration of influenza vaccine in children allergic to eggs. *BMJ* 2009;339:b3680.
- Lippi F, Massai C, Colarusso G, et al. Le vaccinazioni nel bambino allergico e in quello con pneumopatia cronica: quello che il pediatra deve sapere. *Pneumologia Pediatrica* 2006;21:3-9.
- Bohlke K, Davis RL, Marcy M, et al. Risk of anaphylaxis after vaccination of children and adolescents. *Pediatrics* 2003;112:815-20.
- Sampson HA, Munoz-Furlong A, Campbell RL, et al. Second symposium on the definition and management of anaphylaxis: summary report – Second National Institute of Allergy and Infectious Disease/Food Allergy and Anaphylaxis Network symposium. *J Allergy Clin Immunol* 2006;117:391-7.
- Ruggeberg JU, Gold MS, Bayas MG, et al. Anaphylaxis: case definition and guidelines for data collection, analysis, and presentation of immunization safety data. *Vaccine* 2007;25:5675-84.
- Barbaud A, Deschildre A, Waton G, et al. Hypersensitivity to vaccine: an update. *Eur J Dermatol* 2013;23:135-41.
- Begfors E, Trollfors B, Inerot A. Unexpectedly high incidence of persistent itching nodules and delayed hypersensitivity to aluminium in children after the use of adsorbed vaccines from a single manufacturer. *Vaccine* 2003;22:64-9.
- Kelso JM, Greenhawt M, James T. Adverse reactions to vaccines practice parameters 2012 update. *J Allergy Clin Immunol* 2012;130:25-43.
- Kelso JM. Allergic reactions after immunization. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2013;110:397-401.
- Franceschini F, Bottau P, Caimmi S, et al. Vaccination in children with allergy to non active vaccine components. *Clin Transl Med* 2015;4:3.
- Sakaguchi M, Nakayama T, Inouye S. Food allergy to gelatin in children with systemic immediate-type reactions, including anaphylaxis, to vaccines. *J Allergy Clin Immunol* 1996;98:1058-61.
- Wood RA, Setse R, Halsey N. Irritant skin test reactions to common vaccines. *J Allergy Clin Immunol* 2007;120:478-81.
- Fritsche PJ, Helbling A, Ballmer-Weber BK. Vaccine hypersensitivity-update and overview. *Swiss Med Wkly* 2010;140: 238-46.
- Gruber C, Nilsson L, Bjorkstein B. Do early childhood immunizations influence the development of and do they cause allergic reactions? *Pediatr Allergy Immunol* 2001;12:296-311.
- Bernstein IL, Li JT, Bernstein DI, et al. Allergy diagnostic testing: an updated practice parameter. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2008;100:S1-S148.
- O'Hagan DT, Rappuoli R. The safety of vaccines. *Drug Discovery Today* 2004;19:846-54.
- Montecucco C, Schiavo G. Structure and function of tetanus and botulinum neurotoxins. *Q Rev Biophys* 1995;28:423-72.
- Alves RR, Gaspar A, Ferreira MB. Allergic reactions to vaccines. *Eur Ann Allergy Clin Immunol* 2007;39:269-77.
- Ponvert C, Scheinmann P, de Blic J. Anaphylaxis to the 23-valent pneumococcal vaccine: a second explored case by means of immediate-reading skin tests with pneumococcal vaccines. *Vaccine* 2010;28:8256-7.
- Bellantini JA, Fishman HJ, Wientzen RL. Adverse reactions to vaccines. *Immunology Allergy Clin North Am* 1987;7:423-45.
- Jacobs RL, Lowe RS, Lanier BQ. Adverse reactions to tetanus toxoid. *JAMA* 1982;247:40-2.
- Mayorga C, Torres MJ, Corzo JL, et al. Immediate allergy to tetanus toxoid vaccine: determination of immunoglobulin E and immunoglobulin G antibodies to allergenic proteins. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2003;90:238-43.
- Nagel J, Svec D, Waters T, et al. IgE synthesis in man. Development

of specific IgE antibodies after immunization with tetanus-diphtheria (Td) toxoids. *J Immunol* 1977;118:334-41.

- 24 Gruber C, Nilsson L, Björkstén B. Do early childhood immunizations influence the development of atopy and do they cause allergic reactions? *Pediatr Allergy Immunol* 2001;12:296-311.
- 25 Mark A, Björkstén B, Granström M. Immunoglobulin E and G antibodies two years after a booster dose of an aluminum adsorbed or a fluid DT vaccine in relation to atopy. *Pediatr Allergy Immunol* 1997;8:83-8.
- 26 Madaan A, Maddox DE. Vaccine allergy: diagnosis and management. *Immunol Allergy Clin N Am* 2003;23:555-88.
- 27 Wood RA, Berger M, Dreskin S, et al. An algorithm for treatment of patients with hypersensitivity reactions after vaccines. *Pediatrics* 2008;122:771-7.
- 28 Moylett EH, Hanson C. Mechanistic actions of the risks and adverse events associated with vaccine administration. *J Allergy Clin Immunol* 2004;114:1010-20.
- 29 American Academy of Pediatrics. Active immunization. In: Pickering LK, Baker CJ, Long SS, McMillan JA, eds. *Red Book: 2006 Report of the Committee on Infectious Diseases*. 27th ed. Elk Grove Village, IL: American Academy of Pediatrics 2006, pp. 446-8.
- 30 Erlewyn-Lajeunesse M, Brathwaite N, Lucas JSA, et al. Clinical review, recommendations for the administration of influenza vaccine in children allergic to egg. *BMJ* 2009;339:b3680.
- 31 Rutkowski K, Ewan PW, Nasser SM. Administration of yellow fever in patients with egg allergy. *Int Arch Allergy Immunol* 2012;161:274-8.
- 32 Kang LW, Crawford N, Tang ML, et al. Hypersensitivity reactions to human papillomavirus vaccine in Australian school-girls: retrospective cohort study. *BMJ* 2008;337:a2642.
- 33 Carey AB, Meltzer EO. Diagnosis and desensitization in tetanus vaccine hypersensitivity. *Ann Allergy* 1992;69:336-8.
- 34 Atanaskovic-Markovic M, Nestorovic B. Desensitization to diphtheria, tetanus and pertussis vaccine. *Srp Arh Celok Lek* 2003;131:427-31.
- 35 Wood RA. Allergic reaction to vaccines. *Pediatric Allergy Immunology* 2013;24:521-6.



L'immunoterapia specifica: un modello di medicina di precisione. Luci ed ombre dei piani terapeutici

a cura della Commissione AIT
della SIAIP

Claudia Angelucci¹
Giovanna De Castro²
Annalisa di Coste²
Massimo Landi³
Diego Peroni¹
Guglielmo Scala⁴
Giovanni Maria Traina⁵
Salvatore Barberi⁶ (coordinatore)

¹ U.O. di Pediatria, Università di Pisa; ² Dipartimento di Pediatria e NPI, Università Sapienza di Roma; ³ Pediatra di famiglia, Torino, Collaboratore di Ricerca Allergologia e Pneumologia Pediatrica IBIM - CNR Palermo; ⁴ UOSD Allergologia Loreto Crispi, Napoli; ⁵ U.O. Pediatria e Neonatologia, ASST Rhodense-Garbagnate Milanese (MI); ⁶ ASST Fatebenefratelli-Sacco, Milano

Parole chiave:

**immunoterapia specifica,
medicina di precisione, piano
terapeutico**

Corrispondenza

Salvatore Barberi
ASST Fatebenefratelli-Sacco, Milano
E-mail: salvatorebarberi@hotmail.com

Nell'aprile del 2015 la prestigiosa rivista *Nature* ha pubblicato un articolo dal titolo: "Personalized medicine: time for one-person trials" a firma di Nicholas J. Schork. La personalized medicine è da noi conosciuta anche come "precision medicine".

L'autore stigmatizza il fatto che i dieci farmaci con il più alto fatturato negli Stati Uniti d'America funzionano nel migliore dei casi in 1 su 4 pazienti e nel peggiore dei casi 1 su 25, esponendo quindi il caso di una "medicina di imprecisione". Sono questi i farmaci definiti "blockbuster", la cui efficacia è dimostrata attraverso studi di popolazione che per raggiungere i grandi numeri indispensabili ai fini di una registrazione, necessariamente rinunciano alla precisa definizione del singolo paziente ma tengono insieme popolazioni selezionate solo per pochi parametri che li accomunano.

Al contrario, sarebbe auspicabile una medicina di precisione, con un diverso tipo di sperimentazione clinica che si concentri sui singoli e non sulle popolazioni di pazienti.

I risultati positivi di questo modo di agire sono evidenti impattando sulla qualità della vita del paziente e sui costi in generale del sistema di gestione della salute. Di fatto si avvicina molto alla filosofia del *Choosing Wisely*, scegliere consapevolmente, che da qualche anno ormai rappresenta un movimento consolidato nel nord america.

D'altro canto lo sviluppo delle scienze "omiche" potrà portare ad una vera personalizzazione delle terapie sia dal punto di vista dell'individuo sia per cluster di malattie. Un superamento quindi della famosa frase di Steve Jobs "Penso che la più grande innovazione del 21° secolo sarà all'incrocio tra biologia e tecnologia". Si andrà quindi ben oltre il concetto affascinante di univocità delle impronte digitali: le singole informazioni consentiranno una notevole e senza precedenti opportunità di migliorare le cure mediche e di sviluppare strategie di prevenzione per preservare la salute. È facile immaginare che il costo di una terapia "personalizzata" sarà superiore a quello di una terapia "blockbuster". Il costo della terapia renderà necessaria un'accurata selezione dei pazienti. Centrale diventerà quindi l'identificazione di indicatori di efficacia o "biomarkers" che permettano di ottimizzare il rapporto beneficio/spesa.

Sotto questo punto di vista l'immunoterapia specifica rappresenta uno dei modelli che si avvicina maggiormente a quello ottimale di "medicina di precisione". Conosciamo i sintomi clinici, rinite, asma, allergia al veleno di imenotteri, conosciamo la patogenesi, ossia la reazione IgE mediata e la cascata infiammatoria conseguente, conosciamo, infine, in dettaglio i meccanismi di azione del trattamento. Inoltre siamo in grado di individuare gli agenti eziologici an-



Figura 1. I tre steps della medicina di precisione (da Passalacqua et al., Clin Mol Allergy 2015, mod.).

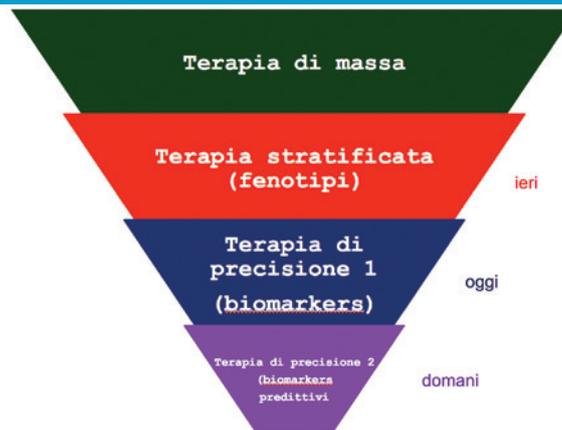


Figura 2. Immunoterapia: il percorso ideale verso la medicina di precisione (da Passalacqua et al., Clin Mol Allergy 2015, mod.).

che a livello molecolare. Infine abbiamo la possibilità, a differenza di quello che avviene con i farmaci, di intervenire sulla storia naturale della malattia.

Nella Figura 1 i tre steps della medicina di precisione. Questo è quello che, di fatto, facciamo oggi: applicare l'immunoterapia a pazienti cui abbiamo diagnosticato un meccanismo IgE mediato per un determinato allergene responsabile della sintomatologia riferita. Sappiamo dalla pratica clinica che il livello di risposta può essere diverso da paziente a paziente; il futuro sarà quindi quello di avere dei biomarkers a disposizione che ci possano predire i responders a questa terapia (Fig. 2). Potremo quindi affermare di aver completato il percorso verso una medicina di precisione.

Vediamo ora alcuni aspetti pratici riferibili alla prescri-

vibilità dei due prodotti registrati in Italia per le graminacee.

Considerazioni generali

Per la prima volta una immunoterapia allergene specifica è rimborsata a livello nazionale nel nostro Paese. Due prodotti registrati possono essere prescritti in tutte le regioni d'Italia a carico del servizio sanitario nazionale (classe A) in pazienti con rinocongiuntivite allergica da graminacee. L'erogazione avviene su prescrizione medica limitativa, da parte di centri ospedalieri o di specialisti – allergologo, pediatra ospedaliero, otorinolaringoiatra, pneumologo, immunologo (RRL) – la prescrizione del medicinale a carico del SSN è soggetta

a diagnosi-piano terapeutico (PT), come da determina 5 febbraio 2016, n. 188, pubblicata nella Gazzetta Ufficiale n. 46 del 25 febbraio 2016 (Oralair) e n. 47 del 26 febbraio 2016 (Grazax), rispettivamente. Il PT di Oralair va ripetuto annualmente, quello di Grazax dura tre anni. In entrambi i casi va compilata alla fine di ciascuna stagione pollinica una scheda di follow up e in entrambi i casi l'efficacia clinica alla fine della prima stagione pollinica deve essere riscontrata prima di proseguire il trattamento per il secondo anno.

I pazienti per i quali sia Oralair che Grazax sono prescrivibili devono essere:

- 1) non responsivi alla terapia sintomatica;
- 2) soffrire di almeno due dei seguenti sintomi: starnutazioni, rinorrea, prurito nasale, ostruzione nasale.
- 3) dotati di conferma diagnostica con prick test e/o IgE specifiche > 0,35 kU/l per graminacee.

Elementi distintivi

Il Grazax va prescritto esclusivamente in modo continuativo, in coerenza con il fatto che la sua indicazione, "trattamento modificante il decorso della malattia della rinite" è applicabile all'assunzione continuativa (perenne) utilizzata nei relativi studi registativi. Al contrario, Oralair va prescritto esclusivamente in modo pre-co-stagionale, in quanto questo farmaco ha come indicazione "trattamento della rinite" ed è stato valutato con studi registativi in cui è stato somministrato in modo pre-co-stagionale nei quali non ha dimostrato capacità modificante il decorso della malattia. L'espressione "trattamento modificante il decorso della malattia" corrisponde, nella classificazione EMA dell'efficacia dei trattamenti con estratti allergenici, al livello 3 su 4, l'espressione "trattamento" non ulteriormente specificata, e riferita a più anni consecutivi di trattamento, corrisponde al livello 2 su 4.

Criticità

1) Sono arruolabili solo i pazienti che non abbiano "risposto" alla terapia tradizionale (vedi punto 2). La risposta alla terapia è evidentemente un parametro questionabile non essendo un fenomeno tutto-o-nulla. Nessun presidio terapeutico ottiene una risposta "total-

le" o inequivocabile. Quale debba essere il cut-off al di sotto del quale quel particolare paziente può essere classificato come non responder non risulta chiaro.

2) In entrambi i piani terapeutici, tra le terapie sintomatiche alle quali il paziente deve non aver risposto sono elencati gli steroidi sistemici. La precedente assunzione di steroidi sistemici, dietro prescrizione medica, è indubbiamente un marcatore di gravità della rinite. Tuttavia, non è sostenibile che la mancata risposta a tale trattamento possa essere indice di gravità di una rinite suscettibile di trattamento con immunoterapia. Questa condizione potrebbe riscontrarsi in pazienti con occlusione irreversibile delle vie aeree, ad esempio per poliposi, che non saranno da avviare a immunoterapia in assenza di intervento chirurgico.

3) Nelle schede di follow up di entrambi i piani terapeutici è indicato che per poter far diagnosi di rinite moderata-persistente al termine della prima e della seconda stagione pollinica il paziente deve avere 2 o più dei 4 sintomi elencati. Nello stesso tempo è esplicitato che non c'è indicazione a continuare il trattamento se non si osservano miglioramenti rilevanti dei sintomi, secondo linee guida. È evidentemente illogico ottemperare simultaneamente a queste due condizioni opposte.

4) Limitatamente alla delibera della Regione Lombardia che regola la gratuità dell'AIT (SCIT e SLIT), un paziente potrà essere trattato con AIT sottocutanea solo dopo avere non tollerato o fallito quella con i registrati sublinguali.

Bibliografia di riferimento

Canonica GW, Bachert C, Hellings P, et al. Allergen Immunotherapy (AIT) a prototype of precision medicine. *World Allergy Organization Journal* 2015;8:31.

Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana n. 46 del 25 febbraio 2016.

Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana n. 47 del 26 febbraio 2016.

Noris M, Remuzzi G. Thrombotic microangiopathy: what not to learn from a meta-analysis. *Nat Rev Nephrol* 2009;5:186-8.

Passalacqua G, Canonica GW. AIT (Allergen Immunotherapy): a model for "precision medicine". *Clin Mol Allergy* 2015;13:24

Schork NJ. Personalized medicine: time for one-person trials. *Nature* 2015;520:609-11

Topol Eric J. Individualized medicine from pre-womb to tomb. *Cell* 2014;157:241-53.

a cura della Commissione
Diagnostica Allergologica
della SIAIPGiovanni Cosimo Indirli¹
Arianna Dondi²
Stefania Arasi³
Anna Maria Bianchi⁴
Davide Caimmi⁵
Barbara Cuomo⁶
Stefania La Grutta⁷
Valentina Panetta⁸
Maria Carmen Verga⁹
Mauro Calvani⁴ (coordinatore)

¹ Unità Operativa Semplice di Allergologia Pediatrica, Ospedale S. Giuseppe da Copertino, Copertino (LE); ² Unità di Pediatria, Ospedale Ramazzini, Carpi (MO); ³ Dipartimento di Pediatria, Università di Messina; ⁴ Unità Operativa Complessa di Pediatria, Ospedale S. Camillo-Forlanini, Roma; ⁵ Unità di Allergologia, Dipartimento Malattie Respiratorie, Ospedale Universitario di Montpellier, Francia; ⁶ Unità Operativa Complessa di Pediatria, Ospedale di Belcolle Viterbo; ⁷ Istituto di Biomedicina e Immunologia Molecolare, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Palermo; ⁸ L'Altrastatistica srl, Ufficio di Biostatistica, Roma; ⁹ Pediatra di Famiglia, ASL Salerno, Vietri sul Mare (SA)

Parole chiave:
latte vaccino, allergia, IgE specifiche, lattealbumina, lattoglobulina, caseina, cut-off, valore predittivo positivo, specificità, test di provocazione

Corrispondenza

Mauro Calvani
Unità Operativa Complessa di
Pediatria, Ospedale S. Camillo-
Forlanini, Roma
E-mail: mi5660@mcmlink.it



Diagnosi di allergia alle proteine del latte vaccino: le IgE specifiche e i cut-off diagnostici

Abstract

Background. La diagnosi di allergia alle proteine del latte vaccino (APLV) IgE-mediata si basa spesso su una storia clinica compatibile e sui risultati di test *in vivo* (skin prick test, SPT) o *in vitro* (ricerca di IgE specifiche, sIgE). Come gli SPT, anche la ricerca delle sIgE presenta una buona sensibilità ma una bassa specificità, cioè risulta spesso positiva in soggetti non allergici. Per questo motivo il TPO rimane ancora il *gold standard* per la diagnosi, nonostante i costi e i rischi per il paziente. L'obiettivo del presente lavoro è quello di effettuare una revisione sistematica della letteratura in modo da identificare, analizzare e valutare tutti gli studi che hanno proposto un valore predittivo delle sIgE per il latte vaccino e per le sue principali molecole allergeniche individuando, nel contempo, dei valori di cut-off utili per la diagnosi.

Metodi. La ricerca su Scopus ha dato luogo a 1383 articoli e quella su Pubmed a 1922. Sono stati inclusi 22 articoli. Gli studi sono stati raggruppati in base all'età, al tipo di allergene e al grado di cottura del latte utilizzato per il TPO.

Risultati. I cut-off proposti in letteratura sono molto eterogenei poiché possono essere influenzati da molti fattori. Ne deriva che essi possono essere considerati applicabili solo in ogni singolo centro che li ha elaborati, e possono difficilmente essere trasferiti ad altri centri. Tuttavia la diagnosi di APLV sembra probabile qualora le sIgE nei confronti del latte vaccino siano ≥ 5 KUA/L nei bambini < 2 anni. Al di sopra dei 2 anni i risultati sono talmente discordanti da rendere impossibile la proposta di un singolo cut-off per il latte fresco. Lo stesso vale per il latte cotto a qualsiasi età. Anche i valori delle sIgE nei confronti delle singole frazioni proteiche non sembrano utili in quanto gli studi sono pochi e i cut-off proposti discordanti.

Introduzione

Il latte vaccino è una fonte vitale di proteine e lipidi ed è abbondantemente consumato in tutto il mondo, anche sotto forma di vari tipi di derivati. L'allergia alle proteine del latte vaccino (APLV) è una delle tre principali allergie alimentari in pediatria, con una prevalenza che va dall'1,8% al 7,5%, variabilità dovuta a differenze nella tipologia degli studi, nei metodi diagnostici utilizzati e nelle età delle popolazioni valutate¹. Secondo uno studio europeo, il latte vaccino è la quarta causa di allergia alimentare in bambini di età compresa tra i 5 mesi e i 15 anni (dopo uovo, arachidi e pesce), ed è responsabile del 12,6% delle allergie alimentari nell'infanzia². L'importanza dell'APLV è evidenziata anche in 2 recenti studi collaborativi italiani: il latte vaccino è il primo allergene causa di anafilassi da alimenti in pediatria³ e il secondo alimento più frequentemente testato in una coorte di 544 pazienti sottoposti a test di provocazione orale (TPO)⁴. La diagnosi di APLV IgE-mediata si basa spesso su una storia clinica compatibile e sui risultati di test *in vivo* (skin prick test, SPT) o *in vitro* (ricerca di IgE specifiche, sIgE). Il ruolo degli SPT nella diagnostica dell'APLV è già stato analizzato in precedenza dal nostro gruppo di lavoro⁵. Analogamente a quanto avviene per gli SPT, la ricerca delle sIgE per il latte vaccino o per le sue singo-

le componenti presenta una buona sensibilità ma una bassa specificità, cioè risulta spesso positiva in soggetti non allergici ⁶. Pertanto, se la diagnosi si basasse solo sulla positività di questi test, un gruppo di soggetti sensibilizzati verrebbe inutilmente sottoposto a una dieta priva di latte vaccino. Per questo motivo, il TPO è il *gold standard* per la diagnosi di APLV, nonostante le difficoltà di esecuzione dovute al costo, all'impegno e, soprattutto, al rischio per il paziente di sviluppare una reazione allergica potenzialmente severa.

È stato da tempo dimostrato che, maggiore è il valore di sIgE per alimenti, più alta la probabilità che il paziente risulti positivo al TPO ⁶. Per tale motivo, alcuni autori hanno tentato di determinare un valore di sIgE per il latte vaccino o per le singole componenti (cut-off) in grado di predire con buona probabilità un esito positivo al TPO per il latte e rendere pertanto non necessaria l'esecuzione di quest'ultimo.

L'obiettivo del presente lavoro è quello di effettuare una revisione sistematica della letteratura in modo da identificare, analizzare e valutare tutti gli studi che hanno proposto un valore predittivo delle sIgE per il latte vaccino e per le sue principali molecole allergeniche (α-lattoalbumina (αLA), b-lattoglobulina (bLG), caseina), anche allo scopo di fornire indicazioni pratiche per la diagnosi di APLV nei bambini.

Diversi studi hanno evidenziato che le proteine del latte si modificano quando esposte al calore o in seguito a digestione enzimatica. Alcuni autori hanno mostrato che i valori di cut-off delle sIgE possono variare con il grado di cottura del latte ⁷ e con l'età del paziente ⁸. Pertanto, nel presente lavoro, abbiamo raggruppato gli studi in base a questi fattori. In base alle nostre ricerche, una tale classificazione non è mai stata presa in considerazione in precedenti revisioni, linee guida o consensus internazionali pubblicate su questo argomento ^{1 9 10}.

Metodi

Una ricerca completa è stata eseguita nel mese di Giugno 2016 su Medline tramite PubMed e Scopus.

Le citazioni sui database elettronici sono state identificate mediante i termini "sIgE" o "specific IgE" e "milk allergy" o "milk hypersensitivity". Per ridurre il rischio di perdere studi rilevanti, le ricerche non sono state ristrette in base al tipo di pubblicazione o al disegno dello studio. Sono stati inclusi inoltre articoli rilevanti, revisioni e studi clinici pubblicati su questo argomento identificati anche in momenti successivi alla prima ricerca ^{1 9 10}.

Tutti questi studi sono stati discussi in dettaglio e valutati dagli autori in maniera standardizzata e indipendente.

Criteri di inclusione ed esclusione

Sono stati inclusi gli studi in cui gli autori hanno cercato dei valori cut-off delle sIgE per la diagnosi di APLV. Nella maggior parte dei casi, la diagnosi era basata sui risultati di un TPO. Sono stati inoltre inclusi anche gli studi in cui la diagnosi, basata su una chiara relazione tra l'esposizione al latte vaccino e la reazione allergica, era stata confermata da sIgE positive, ma solo se eseguite entro breve tempo dalla reazione (1 mese). Sono stati invece esclusi gli studi in cui non c'erano informazioni sufficientemente specifiche per la diagnosi di sola APLV e quelli che individuavano solamente l'optimal cut-off (un cut-off basato sulla migliore combinazione tra sensibilità e specificità), che non permette di selezionare adeguatamente i bambini ad alto rischio di reazione al TPO.

Qualità metodologica degli studi inclusi

La qualità metodologica degli studi inclusi è stata valutata in base ai criteri proposti dallo strumento QUADAS-2 ¹¹. Cinque revisori hanno valutato gli studi per stabilire il rischio di bias; almeno due diversi autori hanno revisionato indipendentemente ogni singolo articolo. Eventuali divergenze nella valutazione di un articolo sono state risolte trovando un consenso tra tutti i revisori.

Risultati

La ricerca su Scopus ha dato luogo a 1383 articoli e quella su Pubmed a 1922. La figura 1 mostra il processo di selezione dei 22 lavori inclusi nella presente revisione, mentre la figura 2 ne riassume la qualità metodologica. Dieci sono gli studi prospettici ^{12 19 22}, i restanti sono retrospettivi o di disegno non specificato dagli Autori. Nella valutazione secondo il QUADAS 2, 8 studi sono stati giudicati a basso rischio di bias e applicabilità per quanto riguarda la selezione dei pazienti; tutti sono risultati a basso rischio di bias e applicabilità per quanto riguarda l'index test, mentre 10 lo sono risultati per il reference standard e solo 5 hanno meritato un giudizio di basso rischio di bias per quel che riguarda il flusso e il timing. Quattordici studi hanno valutato l'efficacia del dosaggio delle IgE specifiche per il latte vaccino, nei confronti dell'allergia al latte vaccino pastorizzato ^{6 8 12-14 17 20-27} e 5 hanno valutato il valore delle sIgE anche per le singole proteine del latte vaccino ^{15-17 28}. Tre studi hanno valutato l'efficacia dia-

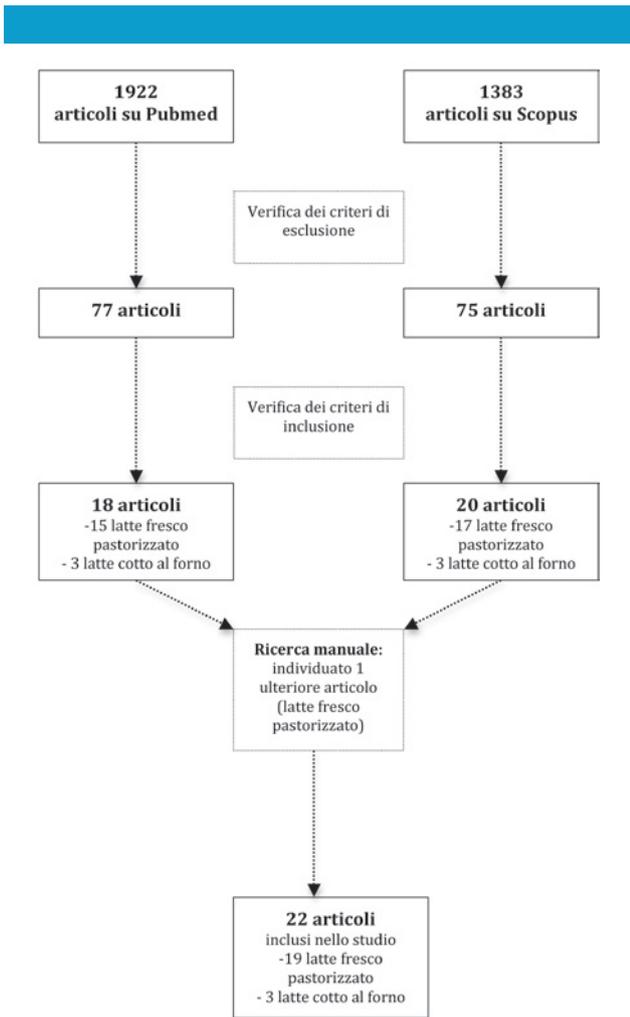


Figura 1. Processo di selezione dei 22 lavori inclusi nella revisione.

gnostica delle sIgE per il latte e per le singole proteine nei confronti dell’allergia al latte vaccino cotto estensivamente al forno in matrice di grano (baked) ^{7 9 30}.

Valore predittivo delle IgE specifiche per la diagnosi di allergia al latte vaccino pastorizzato

La Tabella I riporta i 19 studi che hanno valutato l’efficacia diagnostica delle sIgE per il latte; di questi, 5 hanno valutato anche quella delle sIgE per le sue principali molecole allergeniche (caseina, αLA e βLG). Cinque studi hanno utilizzato il DBPCFC (TPO in doppio cieco contro placebo) in tutti i pazienti ^{6 14 20 22 25}; gli altri lo hanno applicato ad una parte dei pazienti e altri ancora hanno utilizzato il challenge in aperto. Il challenge veniva effettuato con latte pastorizzato o formulato a seconda dell’età. Gli studi differivano anche per prevalenza di allergia e dermatite atopica, analisi statistica, tipo di cut-off cercati e metodica utilizzata.

Tutti questi fattori possono contribuire a spiegare l’estrema variabilità dei cut-off proposti che variano da 0.35 a 88.8 KU_A/L.

Nei bambini di età inferiore a 2 anni, gli studi di Garcia-Ara (2001) ¹² e di Saarinen (2001) ¹³ indicano un cut-off (con il 95% e il 94% di VPP) abbastanza simile (≥ 5 e ≥ 3.5 KU_A/L) e sembrano metodologicamente validi sebbene ambedue siano studi in aperto.

Nei bambini di età > 2 anni, i valori proposti sono molto diversi fra di loro; pur utilizzando, ad esempio, quelli con il 100% di VPP, si passa da un cut-off di 4,18 KU_A/L dello studio di Keskin del 2005 ¹⁴ a 50 KU_A/L di quello di Roehr del 2001 ²² (questi studi utilizzano modalità di esecuzione del challenge molto diverse fra di loro).

Cut-off per le 3 frazioni allergeniche del latte vengono identificati in 4 lavori. In questo caso, se si esclude il lavoro di D’Urbano ²⁸ che trova valori molto difforni dagli altri, distribuiti in un intervallo molto ampio (senza apparente spiegazione) e pertanto poco utilizzabili, i cut-off sembrano inclusi in un range più ristretto. Ad esempio, per quanto riguarda la caseina, essi variano da 1,47 KU_A/L del lavoro di Castro del 2014 ²⁹ a 9 KU_A/L di quello di Garcia-Ara del 2004 ²⁵, con i valori più alti identificati nelle fasce di età superiori.

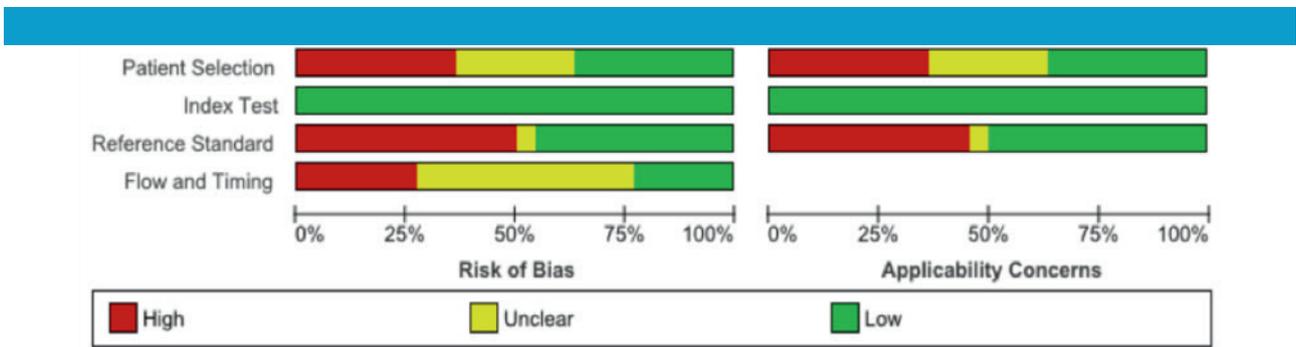


Figura 2. Qualità metodologica dei lavori esaminati.

Tabella I. Studi e cut-off suggeriti per la diagnosi di allergia al latte vaccino fresco utilizzando sIgE per estratto di latte vaccino, aLA, bLG e caseina stratificati per disegno e in ordine crescente di età delle popolazioni esaminate.

Età	Studio	OFC tipo	Età (media/mediana)	Prevalenza di allergia (%)	Tipo di latte vaccino e quantità
≤ 2 anni	Garcia-Ara 2001 N = 170	Aperto	<1 anno (media 4,8 mesi)	44%	LV formulato in diversi giorni 192 ml
	Saarinen 2001 N = 239	Aperto	6,3-7,5 mesi (media 6,9)	49%	LV formulato 161 ml
	Vanto 1999 N = 301	DBPCFC	2-11 mesi (media 7,1)	58%	LV formulato + placebo (1:1) 322 ml (161 ml di LV)
	Majaamaa 1999 N = 143	Aperto 72% DBPCFC 28%	< 2 anni (media 0,9 anni)	50%	Aperto: LV formulato DBPCFC: 10 g polvere LV in 100 ml di placebo 186 ml
> 2 anni	Keskin 2005 N = 37	DBPCFC	1,5 mesi-7 anni (mediana 11 mesi)	62%	10 g di LV formulato in polvere + 100 ml di placebo 186 ml
	Roehr 2001 N = 71	DBPCFC	2 mesi-11,2 anni (mediana 13 mesi)	63%	LV fresco intero 144,4 ml
	Celik-Bilgili 2005 N = 398	Aperto 27% DBPCFC 73%	1 mese-16,1 anni (mediana 13 mesi)	49%	LV fresco intero 144,4 ml
	Mehl 2006 N = 341	Aperto 26,6% DBPCFC 73,4%	3 mesi-14 anni (mediana 13 mesi)	49%	LV fresco intero 144,4 ml
	Ott 2008 N = 85	Aperto o DBPCFC	5-150 mesi (14)	49%	Latte fresco pastorizzato 144,4 ml
	Komata 2007 N = 861	Aperto (99%)	0,2-14,6 anni (mediana 1,3 anni)	25%	n.s.
	Castro 2014 N = 184	DBPCFC 21,2% Aperto 41,4% Anafilassi nell'anno precedente 37,4%	0,3-13,21 anni (1,9)	67%	Latte vaccino a basso contenuto di lattosio 360 ml

Disegno dello studio	Metodologia statistica per la determinazione dei cut-off	Cut-off (kU/L)				Diagnostica	QUADAS-2
		estratto	aLA	bLG	caseina		Domains 1 2 3 4
Prospettico	95% PPV	≥ 5				CAP system Pharmacia	
Prospettico	94% PPV 98% specificità	≥ 3,5				CAP system Pharmacia	
n.s.	70% PPV 88% specificità	≥ 0,7				CAP RAST Pharmacia	
n.s.	82% PPV 94% specificità	RAST positivo				CAP RAST Pharmacia	
Prospettico	100% PPV 100% specificità	4,18				UniCAP Pharmacia	
Prospettico	100% PPV	≥ 50				CAP system Pharmacia	
Retrospectivo	90% PPV	88,8 <1 anno 25,8				CAP system Pharmacia	
Retrospectivo	95% Decision Point	27,5 (APT+)				CAP system Pharmacia	
Retrospectivo	95% PPV	66,9 ≤24m 61,66 >24m 78,76	nd	nd	nd	CAP	
Retrospectivo	95% PPV	50,9 <1 anno 5,8 1 anno 38,6 ≥ 2 anni 57,3				CAP system Pharmacia	
Retrospectivo	98,36% Specificità	3,06	2,08	1,85	1,47	CAP	

segue Tab. I

continua Tab. I

Età	Studio	OFC tipo	Età (media/ mediana)	Prevalenza di allergia (%)	Tipo di latte vaccino e quantità
>2 anni	Garcia-Ara 2004 N = 66	Aperto	9-99 mesi (32,9)	13-18 m: 77% 19-24 m: 62% 25-36 m: 35% fine del follow-up: 32%	latte vaccino formulato dose crescente suddivisa in 4 giorni, quantità massima in base all'età del bambino
	van der Gugten 2008 N = 213	DBPCFC	0,23-15,49 anni (media 2,97)	44%	LV 250 ml
	Chung 2010 N = 86	Aperto	media 3,1 ± 1,4 anni	12,8%	LV 165 ml
	Ito 2012 N = 83	Aperto	0,8-15,8 anni (3,5)	74%	latte crudo 68 ml
	Sampson 2001 N = 62	DBPCFC 34% (resto no challenge)	3 mesi-14 anni (mediana 3,8 anni)	66%	10 g di proteine del LV in placebo
	D'Urbano 2010 N = 58	Aperto	0,7-15,1 anni (4,9)	55%	Latte fresco pastorizzato 250 ml
	Sampson 1997 N = 109	DBPCFC	0,6-17,9 anni (media 5,2 anni)	50%	10 g di proteine del LV in placebo
	Perry 2004 N = 166	Aperto	mediana 5,3 anni	55%	4 g di proteina in veicolo adatto all'età

Valore predittivo delle IgE specifiche per la diagnosi di allergia al latte estensivamente cotto (baked)

Tre soli studi hanno valutato l'efficacia diagnostica delle sIgE nei confronti del latte vaccino e/o delle sue proteine per la diagnosi di allergia al latte estensivamente cotto in matrice di grano (Nowak-Wegrzyn 2008⁷, Bartnikas 2012³⁰ e Caubet 2013¹⁹) (Tab. II). I cut-off non sono confrontabili poiché il primo valuta il VPP, il secondo il VPN e il terzo la Specificità.

Discussione

L'utilizzo dei cut-off per porre la diagnosi di Allergia

al Latte Vaccino, senza passare attraverso un TPO è stato proposto da anni e ricercato in numerosi studi. Nel nostro lavoro abbiamo tentato di individuare i cut-off che potessero eventualmente consentire di fare diagnosi di Allergia al Latte Vaccino Pastorizzato e a quello cotto al forno in matrice di grano. Le proteine del latte si modificano quando esposte al calore. Le alte temperature modificano gli epitopi conformazionali ed in parte alterano quelli sequenziali. Il riscaldamento è uno dei più comuni trattamenti tecnologici applicati durante la processazione del latte con effetti differenti sul legame delle IgE alle proteine a seconda delle condizioni termiche utilizzate. I trattamenti blandi

	Disegno dello studio	Metodologia statistica per la determinazione dei cut-off	Cut-off (kU/L)				Diagnostica	QUADAS-2			
			estratto	α LA	β LG	caseina		Domains 1 2 3 4	Risk of Bias 1 2 3	Applicability	
	Prospettivo	>95% PPV per estratto e caseina 90% PPV per LA e LG	13-18m 2,7 19-24m 9 25-36m 24	13-18m 1,5 19-24m 2 25-36m 7	13-18m 0,35 19-24m 2 25-36m 3,5	13-18m 2 19-24m 4,2 25-36m 9	CAP				
	Retrospectivo	90% PPV per tutto il campione 95% PPV per i sottogruppi	66,4 <1 anno 31,5 <2,5 anni 33,4				CAP system Pharmacia				
	n.s.	33% PPV 97,5% specificità	6,9				RAST Pharmacia				
	Prospettivo	100% specificità	nd	nd	nd	6,6	CAP				
	Prospettivo	95% PPV 94% specificità	15				CAP system Pharmacia				
	Prospettivo	93% PPV per estratto 100% PPV per LA e LG 85% PPV per caseina	16,6	34,27	9,91	0,78	CAP				
	Retrospectivo	>95% PPV 98% specificità	32				CAP system Pharmacia				
	Retrospectivo	80% PPV	>3				CAP system Pharmacia				

non sono sufficienti a ridurre l'allergenicità del latte, come è stato mostrato per il latte pastorizzato, che è in grado di indurre reazioni nei soggetti allergici al latte. Al contrario, quando la cottura avviene a temperature più alte e per un tempo più lungo, è in grado di ridurre l'allergenicità del latte. La bollitura interferisce rapidamente sulle sieroproteine: dopo appena 10 minuti scompare la lattoferrina, dopo 15 minuti la β LG e dopo 30 minuti scompare l' α LA; la caseina appare più stabile al calore, tanto che la sua banda risulta ancora visibile sul gel di poliaccrilammide SDS_PAGE quando il latte viene bollito a 100°C per 120 minuti. Inoltre, quando la cottura avviene in matrice di grano e per

lungo tempo come per i prodotti da forno, le proteine del latte vengono alterate sia dal calore che dalle reazioni chimiche con i grassi e gli zuccheri della matrice e rese così meno accessibili al sistema immunitario del soggetto allergico (effetto matrice).

Sebbene raggruppati in base al grado di cottura, alla fascia d'età (sotto e sopra i 2 anni) e al tipo di allergene utilizzato, i cut-off proposti mostrano un alto grado di variabilità. La loro ampia diversità potrebbe essere legata a diversi fattori, tra cui: a) due diverse tipologie di cut-off sono state proposte in letteratura, sia per gli STP sia per le IgE specifiche: quelli basati su un elevato VPP (95%) e quelli basati su un'alta specificità (95%), i

Tabella II. Studi e cut-off suggeriti per la diagnosi di allergia al latte vaccino cotto al forno utilizzando sIgE per estratto di latte vaccino, aLA, bLG e caseina.

Studio	OFC tipo	Età (mediana)	Prevalenza di allergia (%)	Tipo di latte vaccino e quantità
Nowak-Wegrzyn 2008 N = 100	Aperto	2,1-17,3 anni (media 7,5)	23%	1,3 g di proteine del latte sotto forma di muffin (cottura al forno 30' a 350°F) e di waffle (<0,625 inch spessore, cottura al forno 3' a 500°F)
Bartnikas 2012 N = 35	Aperto	3,1-18,1 anni (8,1)	17%	Latte cotto tramite muffin cotto a 350°F per 30' (2,6 g di proteine del latte)
Caubet 2013 N = 225 (due coorti di 97 e 128 pazienti)	Aperto	prima coorte: 2,1-17,3 anni (media 7,5) seconda coorte: 4-11 anni (7,6)	Prima coorte: 23,7% seconda coorte: 29,7%	Prima coorte: muffin cotto a 350°F per 30' oppure waffle cotto a 500°F per 3' (1,3 g di proteine del latte) seconda coorte: muffin cotto a 350°F per 30' (1,5 g di proteine del latte); pizza cotta a 425°F per 13' (4 g di proteine del latte); pudding di riso cotto a 325°F per 90' (7,7 g di proteine del latte)

cui risultati possono essere differenti anche sulla stessa popolazione; b) i cut-off proposti possono cambiare notevolmente, anche nella stessa popolazione, per piccole variazioni nei livelli di valore predittivo scelti; c) la scarsa qualità metodologica degli studi (pochi DBPCFC); d) l'alto rischio di bias nella maggior parte degli studi (ad esempio il rischio legato alla scelta del "reference standard" nello studio di Saarinen¹³ che assegna come TPO positivi quelli con sintomi comparsi tardivamente a domicilio anche con reazioni ritardate come l'eczema e) scarsa numerosità di alcune casistiche; f) altri motivi quali differenze nella selezione dei pazienti e nei criteri per definire positivo un TPO.

Indicazioni cliniche pratiche

Data la larga variabilità dei cut-off proposti, abbiamo tentato di ricavare alcune indicazioni pratiche dagli studi metodologicamente più robusti (prospettici, DBPCFC) e, dove possibile, da quelli con i migliori risultati al QUADAS 2. Per i bambini di età inferiore a 2 anni e per quanto riguarda le sIgE per il latte, 2 studi entrambi prospettici, con un discreto risultato alla valutazione QUADAS 2 e con discreta numerosità, hanno indicato un cut-off, con il 95% di VPP, abbastanza simile (Garcia-Ara 2001 = ≥ 5 KU_A/L¹² e Saarinen 2001 = $\geq 3,5$ KU_A/L¹³, sebbene quest'ultimo presenti un grosso rischio di bias al "reference standard"). Un altro studio, e cioè quello di Keskin del 2005¹⁴, con un'ottima valutazione al QUADAS 2 e metodologicamente molto valido (DBPCFC, prospettico), seppur gravato da un basso numero di pazienti, ha ottenuto un cut-off vicino ai 2 precedenti, con specificità e VPP pari al 100% (4,18 KU_A/L).

Nei bambini di età uguale o superiore ai 2 anni, è difficile definire cut-offs utili dal punto di vista pratico per la diagnosi di allergia al LV. I cut-offs proposti sono eterogenei e la stessa cosa vale per quelli per le singole proteine, anche selezionando studi metodologicamente validi e che usano gli stessi metodi statistici. Per es, 2 studi prospettici che hanno utilizzato il DBPCFC^{13 14} e con prevalenza dell'allergia simile (62% e 63% rispettivamente) propongono un cut-off con un VPP del 100%, di 4,18 e > 50 KUA/L, rispettivamente.

Risulta davvero difficile indicare dei cut-off per le singole proteine del LV. Gli studi sono ancora troppo pochi e con risultati discordanti.

Conclusioni

Nessun valore di cut-off può, di per sé, permettere di diagnosticare in maniera certa un'allergia alle proteine del LV, sia pastorizzato che cotto al forno in matrice di grano. I cut-offs possono essere influenzati da molti fattori, cosicché possono essere applicabili solo nel singolo centro che li ha individuati, mentre possono essere difficilmente trasferibili ad altri centri. Comunque in bambini < 2 anni, quando le IgE nei confronti del LV sono sopra 5 KUAL, la reale necessità di ottenere una diagnosi certa tramite il TPO deve essere attentamente valutata.

Bibliografia

- Luit D, Ball H, Makwana N, et al. Standards of Care Committee (SOCC) of the British Society for Allergy and Clinical Immunology (BSACI): BSA-CI guideline for the diagnosis and management of cow's milk allergy. Clin Exp Allergy 2014;44:642-72.
- Rancé F, Kanny G, Dutau G, et al. Food hypersensitivity in children:

Disegno dello studio	Metodologia statistica per la determinazione dei cut-off	Cut-off estratto (kU/L)	Cut-off aLA (kU/L)	Cut-off bLG (kU/L)	Cut-off caseina (kU/L)	Diagnostica	QUADAS-2
							Domains 1 2 3 4 Risk of Bias 1 2 3 Applicability
Prospettivo	85,7% VPP	35				UniCAP Phadia	
Retrospectivo	> 90% NPV per estratto, LA e caseina 84,2% NPV per LG	1	0,35	0,35	0,9	CAP	
Prospettivo	95% specificità	24,5	nd	nd	20,2	CAP	

clinical aspects and distribution of allergens. *Pediatr Allergy Immunol* 1999; 10: 33-8.

- 3 Calvani M, Cardinale F, Martelli A, et al. Italian Society of Pediatric Allergy and Immunology Anaphylaxis Study Group. Risk factors for severe pediatric food anaphylaxis in Italy. *Pediatr Allergy Immunol* 2011;22:813-9.
- 4 Calvani M, Berti I, Fiocchi A, et al. Oral food challenge: safety, adherence to guidelines and predictive value of skin prick testing. *Pediatr Allergy Immunol* 2012;23:755-61.
- 5 Cuomo B, Bianchi A, Arasi S, et al. Revisione sistematica sul valore predittivo degli SPT nella diagnosi di allergia alle protein del latte vacine. RIAP IN PRESS.
- 6 Sampson HA, Ho DG. Relationship between food-specific IgE concentrations and the risk of positive food challenges in children and adolescents. *J Allergy Clin Immunol* 1997;100:444-51.
- 7 Nowak-Węgrzyn A, Bloom KA, Sicherer SH, et al. Tolerance to extensively heated milk in children with cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2008;122:342-7.
- 8 Komata T, Söderström L, Borres MP, et al. The predictive relationship of food-specific serum IgE concentrations to challenge outcomes for egg and milk varies by patient age. *J Allergy Clin Immunol* 2007;119:1272-74.
- 9 Hochwallner H, Schulmeister U, Swoboda I, et al. Cow's milk allergy: from allergens to new forms of diagnosis, therapy and prevention. *Methods* 2014;66:22-33.
- 10 Koletzko S, Niggemann B, Arato A, et al; European Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition. Diagnostic approach and management of cow's-milk protein allergy in infants and children: ESPGHAN GI Committee practical guidelines. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2012;55:221-9.
- 11 Whiting PF, Rutjes AW, Westwood ME, et al. QUADAS-2: a revised tool for the quality assessment of diagnostic accuracy studies. *Ann Intern Med* 2011;155:529-36.
- 12 Garcia-Ara C, Boyano-Martinez T, Diaz-Pena JM, et al. Specific IgE levels in the diagnosis of immediate hypersensitivity to cow's milk protein in the infant. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107:185-90.
- 13 Saarinen KM, Suomalainen H, Savilahti E, et al. Diagnostic value of skin-prick and patch tests and serum eosinophil cationic protein and cow's milk-specific IgE in infants with cow's milk allergy. *Clin Exp Allergy* 2001;31:423-29.
- 14 Keskin O, Tuncer A, Adalioglu G, et al. Evaluation of the utility of atopy patch testing, skin prick testing, and total and specific IgE assays in the diagnosis of cow's milk allergy. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2005;94:553-60.
- 15 Garcia-Ara MC, Boyano-Martinez MT, Diaz-Pena JM, et al. Cow's milk-specific immunoglobulin E levels as predictor of clinical reactivity in the follow-up of the cow's milk allergy infants. *Clin Exp Allergy* 2004;34:866-70.
- 16 Ito K, Futamura M, Movérare R, et al. The usefulness of casein-specific IgE and IgG₄ antibodies in cow's milk allergic children. *Clin Mol Allergy* 2012;10:1.
- 17 Sampson AH. Utility of food-specific IgE concentration in predicting symptomatic food allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107:891-96.
- 18 D'Urbano LE, Pellegrino K, Artesani MC, et al. Performance of a component-based allergen-microarray in the diagnosis of cow's milk and hen's egg allergy. *Clin Exp Allergy* 2010;40:1561-70.
- 19 Caubet JC, Nowak-Węgrzyn A, Moshier E, et al. Utility of caseine-specific IgE levels in predicting reactivity to baked milk. *J Allergy Clin Immunol* 2013;131:222-4.
- 20 Vanto T, Juntunen-Backman K, Kalimo K, et al. The patch test, skin prick test, and serum milk-specific IgE as diagnostic tools in cow's milk allergy in infants. *Allergy* 1999;14:837-42.
- 21 Majamaa H, Moisoio P, Holm K, et al. Cow's milk allergy: diagnostic accuracy of skin prick and patch tests and specific IgE. *Allergy* 1999;54:346-51.
- 22 Roehr CC, Reibel S, Ziegert M, et al. Atopy patch tests, together with determination of specific IgE levels, reduce the need of oral food challenge in children with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107:548-53.
- 23 Celik-Bilgili S, Mehl A, Verstege A, et al. The predictive value of specific immunoglobulin E levels in serum for the outcome of oral challenges. *Clin Exp Allergy* 2005;35:268-73.
- 24 Mehl A, Rolinck-Werninghaus C, Staden U, et al. The atopy patch test in the diagnostic workup of suspected food-related symptoms in children. *J Allergy Clin Immunol* 2006;118:923-39.
- 25 Van der Gugten AC, den Otter M, Meijer Y, et al. Usefulness of specific IgE levels in predicting cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2008;121:531-3.
- 26 Chung BY, Kim HO, Park CW, et al. Diagnostic Usefulness of the Serum-Specific IgE, the Skin Prick Test and the Atopy Patch Test Compared with That of the Oral Food Challenge Test. *Ann Dermatol* 2010;22:404-11.
- 27 Perry TT, Matsui EC, Conover-Walker MK, et al. The relationship of allergen-specific IgE levels and oral food challenge outcome. *J Allergy Clin Immunol* 2004;114:144-9.
- 28 Ott H, Baron JM, Heise R, et al. Clinical usefulness of microarray-based IgE detection in children with suspected food allergy. *Allergy* 2008;63:1521-8.
- 29 Castro AP, Pastorino AC, Gushken AKF, et al. Establishing a cut-off for the serum levels of specific IgE to milk and its components for cow's milk allergy: results from a specific population. *Allergol Immunopathol (Madr)* 2015;43:67-72.
- 30 Bartnikas LM, Sheehan WJ, Hoffmann EB, et al. Predicting food challenge outcomes for baked milk: role of specific IgE and skin prick testing. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2012;109:309-13.



I vaccini MPR/V: uno strumento per raggiungere gli obiettivi OMS di eliminazione di morbillo e rosolia e di controllo di parotite e varicella

Milena Lo Giudice¹
Giovanni Vitali Rosati²

¹ *Pediatra di famiglia Palermo;*

² *Pediatra di famiglia Firenze*

Parole chiave:

MPR/V, vaccinazione, vaccino anti morbillo, parotite, rosolia e varicella, ceppo Oka/Merck

Abstract

Una delle sfide per la Sanità Pubblica è la implementazione nei programmi di immunizzazione della vaccinazione anti MPR/V. Per il controllo della varicella si possono utilizzare sia il vaccino anti MPRV combinato che il vaccino anti varicella. Nel lavoro si propone una sintetica revisione dei dati di immunogenicità, sicurezza, efficacia ed effectiveness per il vaccino combinato anti morbillo, parotite e rosolia (ceppi Enders-Edmonston, Jeryl Lynn, Wistar RA 27-3) (MPR), per il vaccino anti varicella ceppo Oka/Merck (V), per il vaccino anti morbillo, parotite, rosolia e varicella ceppo Oka/Merck (MPRV). I dati disponibili per questi vaccini anti morbillo, parotite, rosolia e varicella, confermano il favorevole profilo di immunogenicità, sicurezza, efficacia ed effectiveness della vaccinazione. Per i vaccini anti varicella ceppo Oka/Merck, i dati di campo e l'elevata immunogenicità confermano che essi sono uno strumento efficace per il controllo della varicella e dei casi di varicella breakthrough, fornendo un valido strumento per le strategie vaccinali e di sanità pubblica.

Introduzione

Gli Stati membri dell'Unione Europea stanno affrontando sfide per la salute pubblica, cercando di migliorare l'efficienza dei sistemi di assistenza sanitaria e garantire la sostenibilità delle finanze pubbliche. Una delle sfide più ardue, in ambito di prevenzione, che gli Stati Membri dell'UE si trovano ad affrontare, è quella di implementare i propri programmi vaccinali MPR/V in modo da eliminare il morbillo e la rosolia e controllare la parotite e la varicella.

Gli attuali vaccini MPR/V utilizzati nei programmi vaccinali pediatrici in UE sono: vaccini anti morbillo, parotite e rosolia trivalenti combinati (MPR); vaccini anti varicella monovalenti (V); vaccini anti morbillo, parotite, rosolia e varicella tetravalenti combinati (MPRV). Per il controllo della varicella i paesi possono utilizzare nei programmi di vaccinazione sia il vaccino MPRV combinato che il vaccino anti varicella. Con il presente lavoro si intende produrre una sintetica revisione dei dati di immunogenicità, sicurezza, efficacia ed effectiveness per il **vaccino combinato anti morbillo, parotite e rosolia (ceppi Enders-Edmonston, Jeryl Lynn, Wistar RA 27-3) (MPR*)**, **il vaccino anti varicella (V*)**, **ceppo Oka/Merck**, **il vaccino anti morbillo, parotite, rosolia e varicella ceppo Oka/Merck (MPRV*)** ^a.

Corrispondenza

Giovanni Vitali Rosati
via della Montagnola, 239
50022 Greve in Chianti (FI)
E-mail: giovannivitalirosati@gmail.com

^a *In questo lavoro le sigle dei vaccini MPR*, V* e MPRV* denotano seguite da asterisco* rispettivamente il vaccino combinato anti morbillo, parotite e rosolia (ceppi Enders-Edmonston, Jeryl Lynn, Wistar RA 27-3) (MPR), il vaccino anti varicella (V), ceppo Oka/Merck, il vaccino anti morbillo, parotite, rosolia e varicella ceppo Oka/Merck (MPRV), oggetto del lavoro di sintesi dei dati.*

Questi vaccini sono utilizzati da lungo tempo in tutto il mondo ove si sono evidenziati risultati positivi. Il vaccino anti morbillo, parotite e rosolia (MPR*), è utilizzato da oltre 30 anni (620 milioni di dosi distribuite in tutto il mondo), si è dimostrato uno strumento fondamentale per l'eliminazione di morbillo, parotite e rosolia ottenendo una riduzione di $\geq 99\%$ dei casi di queste tre patologie tramite l'implementazione di programmi vaccinali a 2 dosi (come dimostrato in USA e Finlandia).

Il vaccino anti varicella (V*), ceppo Oka/Merck, (42 anni di esperienza e oltre 150 milioni di dosi distribuite) ha ampiamente dimostrato di ridurre durevolmente il rischio di varicella: negli studi clinici si è riportata un'efficacia elevata e duratura contro la varicella per qualsiasi gravità: 94% dopo 1 dose, 98% dopo 2 dosi in un periodo di 10 anni di follow-up. Tale efficacia clinica è stata confermata anche nell'utilizzo routinario del vaccino, osservando una riduzione dalle 9 alle 10 volte dell'incidenza media della varicella negli USA e dimostrando una efficacia globale del 90% per un periodo di 14 anni di follow-up.

Il vaccino anti morbillo, parotite, rosolia e varicella ceppo Oka/Merck (MPRV*), ha acquisito una considerevole esperienza post-marketing, soprattutto negli USA, con oltre 10 milioni di dosi distribuite in tutto il mondo, contiene gli stessi componenti dei vaccini MPR e V ceppo Oka/Merck ed è disponibile per il mercato UE dal 2015. Combinando la vaccinazione MPR e quella per la varicella, il vaccino MPRV riduce il numero di iniezioni, contribuendo a facilitare e migliorare la copertura della vaccinazione MPR/V. Questo vaccino MPRV ha dimostrato di fornire lo stesso livello di immunogenicità per varicella dei vaccini Oka/Merck V e MPR per tutte le valenze, ed ha dimostrato alti livelli di sieroprotezione contro le malattie MPRV ed una elevata immunogenicità contro la varicella con qualunque scheda vaccinale (una o due dosi).

I dati riassunti possono essere utili per un'analisi critica in Italia circa le possibili strategie di prevenzione del morbillo, parotite, rosolia e per quanto riguarda la prevenzione della varicella i dati immunologici e clinici a supporto del ceppo Oka/Merck, possono essere altresì utili per la definizione delle opportune strategie per la riduzione dei casi di varicella *breakthrough*.

Il vaccino anti morbillo, parotite e rosolia (ceppi Enders-Edmonston, Jeryl Lynn, Wistar RA 27-3) (MPR)

MPR* è un vaccino combinato per morbillo, parotite e rosolia, indicato per la vaccinazione simultanea contro morbillo, parotite e rosolia. È un vaccino vivo attenuato che si presenta in forma di preparazione liofilizzata dei tre ceppi di vaccino, da somministrare dopo ricostituzione¹; ha ottenuto l'autorizzazione all'immissione in commercio il 5 maggio 2006². Viene somministrato agli individui di età superiore ai 12 mesi o ai 9 mesi in circostanze particolari (raccomandazioni nazionali o quando è necessaria una protezione precoce).

Grazie agli oltre 30 anni di esperienza mondiale e agli oltre 620 milioni di dosi distribuite in tutto il mondo, MPR* (e le sue precedenti formulazioni) è un vaccino che è stato ampiamente usato nel mondo, producendo così evidenze ampiamente documentate sulla sua efficacia sia negli studi clinici che nell'efficacia di campo e sul suo profilo di sicurezza. Il vaccino ha determinato una riduzione $\geq 99\%$ dei casi di morbillo, parotite e rosolia quando è stato incluso nei programmi vaccinali di routine a 2 dosi (come dimostrato in USA e Finlandia).

La recente formulazione¹ ha sostituito la precedente formulazione europea del vaccino per MPR³ per supportare la sostituzione di HSA (albumina sierica umana) usata nella produzione di quantità di virus con rHA (albumina umana ricombinante), dimostrando un profilo di immunogenicità e sicurezza paragonabile a quello in un "bridging study" che ha dimostrato la equivalenza in termini di immunogenicità e di sicurezza delle due formulazioni⁴. Il vaccino contiene:

- Un **ceppo vaccinale di morbillo** derivato da ceppo **Enders-Edmonston vivo** (precedentemente chiamato 'Moraten'). Il ceppo vaccinale Enders-Edmonston è una preparazione ulteriormente attenuata del precedente ceppo (Edmonston B)⁵. Questo vaccino è stato autorizzato in USA nel 1968 ed è l'unico vaccino per il morbillo approvato negli USA⁶.
- Un **ceppo vaccinale di parotite**: il **ceppo Jeryl Lynn** del virus della parotite è stato isolato dalla faringe di Jeryl Lynn Hilleman, figlia di Maurice Hilleman che ha sviluppato il vaccino presso Merck & Co. Il vaccino è stato approvato negli USA nel 1967 ed è l'unico vaccino per parotite approvato negli USA⁷.

- Un **ceppo vaccinale di rosolia**: il **ceppo Wistar RA 27-3**.

Nella pratica clinica, questo vaccino offre una somministrazione flessibile agli operatori sanitari: può essere usato in concomitanza con altre vaccinazioni infantili tra le quali DTaP (o DTwP), IPV (o OPV), Hib (*Haemophilus influenzae* di tipo b), Hib-HBV (*Haemophilus influenzae* di tipo b con vaccino per l'epatite B), varicella, Prevenar e/o vaccino per l'epatite A ¹.

Evidenze cliniche e di efficacia post-marketing di MPR*

L'elevato grado di efficacia protettiva dei tre componenti è stato stabilito in una serie di studi di campo controllati e in doppio cieco effettuati con la precedente formulazione. Questi risultati hanno anche stabilito che la *sieroconversione in risposta alla vaccinazione contro morbillo, parotite e rosolia è stata del tutto simile alla protezione riscontrata in soggetti che avevano contratto queste malattie* ¹.

L'elevato grado di efficacia protettiva del vaccino dimostrata negli studi clinici è stata poi confermata in tutto il mondo dall'uso di routine. Infatti, l'impiego diffuso del vaccino in una schedula vaccinale a 2 dosi negli USA, e in paesi quali la Finlandia e la Svezia, ha determinato una riduzione $\geq 99\%$ nell'incidenza di ciascuna delle 3 malattie target ¹. Negli USA, MPR* è stato l'unico vaccino di combinazione per morbillo, parotite e rosolia usato a partire dal 1978 e ha determinato una riduzione $\geq 99\%$ di queste tre malattie. Il morbillo è stato eliminato nel 2000, la rosolia e la Sindrome da Rosolia Congenita (CRS) nel 2010 ⁵. In Finlandia, MPR* è stato usato quasi esclusivamente per oltre 20 anni. Il morbillo è stato eliminato nel 1996, la parotite e la rosolia nel 1997 ⁸.

Evidenze cliniche e di sicurezza post-marketing di MPR*

Il profilo di sicurezza è molto ben documentato e accertato grazie a un'esperienza di oltre 30 anni. Il vaccino è attualmente autorizzato in 67 paesi ⁹. Il vaccino è ben tollerato ¹⁰, le reazioni avverse più comuni segnalate negli studi clinici sono state: febbre (38,5°C o superiore), reazioni al sito di iniezione tra le quali dolorabilità, gonfiore ed eritema ¹.

Il vaccino monovalente anti varicella, ceppo Oka/Merck (V*)

Il vaccino anti varicella contiene il ceppo della varicella detto Oka/Merck (≥ 1.350 unità formanti placca - UFP) ¹¹. È derivato da un ceppo parentale di virus zoster della varicella (VZV) wild-type isolato in Giappone nel 1971 da un bambino giapponese sano chiamato Oka che presentava infezione da VZV. Il virus Oka è stato attenuato con passaggio sequenziale in coltura di cellule e il risultante ceppo del virus Oka/Biken è stato utilizzato per vaccinare i bambini giapponesi a partire dal 1974. Questo ceppo vaccinale è stato successivamente attenuato in seguito ad ulteriori tappe di propagazione in colture cellulari ¹² fino ad ottenere il ceppo Oka/Merck impiegato nel vaccino.

Il vaccino ha un'estesa esperienza dimostrata nel ridurre il rischio della varicella per oltre 10 anni. Negli studi clinici, il vaccino ha dimostrato un'efficacia clinica elevata e durevole contro la varicella di qualsiasi grado di severità: 94% dopo 1 dose e 98% dopo 2 dosi per un periodo di 10 anni. Tale efficacia clinica è stata confermata anche nell'uso routinario: riduzione dalle 9 alle 10 volte dell'incidenza media della varicella negli USA e 90% di efficacia globale dimostrata per un periodo di 14 anni.

Il profilo di sicurezza è ben documentato e accertato grazie ad una vasta esperienza post-marketing (oltre 150 milioni di dosi distribuite in tutto il mondo). È l'unico vaccino monovalente per la varicella che può essere somministrato per via *intramuscolare (IM)* o *sottocutanea (SC)*, a seconda delle preferenze. Ha un ampio profilo di somministrazione concomitante in base al *Riassunto delle caratteristiche del Prodotto (RCP)*: può essere somministrato in concomitanza con il vaccino per morbillo, parotite e rosolia, il vaccino coniugato per *Haemophilus influenzae* di tipo b, il vaccino per l'epatite B, il vaccino per DtwP e OPV ¹¹.

Evidenze cliniche e di efficacia post-marketing del vaccino anti varicella, ceppo Oka/Merck

Dati di immunogenicità

- *Risposta immune di un regime di due dosi in individui di età compresa tra i 12 mesi e i 12 anni* ¹¹

In uno studio multicentrico, bambini sani di età com-

presa tra 12 mesi e 12 anni hanno ricevuto 1 dose o 2 dosi somministrate a distanza di 3 mesi l'una dall'altra (Tab. I).

I risultati di questo e di altri studi nei quali è stata somministrata una seconda dose da 3 a 6 anni dopo la dose iniziale hanno dimostrato un potenziamento significativo della risposta anticorpale di VZV con una seconda dose. I livelli anticorpali di VZV dopo 2 dosi somministrate da 3 a 6 anni sono paragonabili a quelli ottenuti con la somministrazione di 2 dosi a 3 mesi di distanza una dall'altra. I tassi di sieroconversione erano circa del 100% dopo la prima dose e del 100% dopo la seconda dose. I tassi di sieroprotezione del vaccino (≥ 5 gp ELISA unità/ml) erano circa dell'85% dopo la prima dose e del 100% dopo la seconda dose e il valore del GMT (titolo medio geometrico) è aumentato ad una media di circa 10 volte dopo la seconda dose. La persistenza anticorpale di VZV con entrambi i regimi è rimasta molto elevata a 9 anni (il 99% per il gruppo che ha ricevuto 1 dose e il 98,8% per il gruppo che ha ricevuto 2 dosi) ¹¹.

Dati di efficacia clinica

- *Efficacia del regime ad una dose in soggetti sani di età compresa tra 12 mesi e 12 anni* ¹¹

In un gruppo di 9.202 soggetti di età compresa tra i 12 mesi e i 12 anni che hanno ricevuto una dose di vaccino per la varicella, sono stati osservati 1.149 casi di infezione (manifestatisi dopo oltre 6 settimane dalla vaccinazione) per un periodo di follow-up fino a 13 anni; 20 di questi casi (1,7%) sono stati classificati come severi. Ciò corrisponde ad un 95% di riduzione relativa nella percentuale di casi severi osservati nei

vaccinati che hanno acquisito l'infezione in seguito alla vaccinazione.

- *Efficacia del regime a due dosi in soggetti sani di età compresa tra 12 mesi e 12 anni* ¹¹

In uno studio di confronto tra 1 dose (N = 1.114) e 2 dosi (N = 1.102) somministrate a distanza di 3 mesi, l'efficacia stimata contro la varicella di tutti i gradi di severità per il periodo di osservazione di 10 anni è stata del 94% per 1 dose e del 98% per 2 dosi ($p < 0,001$). Il tasso cumulativo di varicella nel periodo di osservazione di 10 anni è stato del 7,5% dopo 1 dose e del 2,2% dopo 2 dosi. La maggior parte dei casi di varicella segnalati in soggetti che avevano ricevuto 1 o 2 dosi erano lievi.

Dati di efficacia di campo

L'efficacia elevata e mantenuta nel tempo, dimostrata negli studi clinici, è stata poi confermata nell'uso di routine contro la varicella di tutti i gradi di severità. L'impiego diffuso del vaccino nei programmi vaccinali di routine nei bambini negli USA, e in alcune regioni dell'Europa, ha ridotto di $\geq 90\%$ l'incidenza della varicella, senza alcuna indicazione di attenuazione per un periodo di 14 anni ^{11 15}. L'efficacia di campo (VE) di V* è stata stimata a $\geq 90\%$. Di seguito sono illustrati i risultati chiave degli studi di impatto/efficacia di campo del vaccino nelle zone in cui è stato incluso nei programmi vaccinali in routine per la varicella nei bambini.

- *Impatto/efficacia di campo negli USA* ¹⁵

Negli USA, ove si utilizza esclusivamente il vaccino anti varicella ceppo Oka/Merck, è stato implementato un programma vaccinale ad una dose nel 1995 seguito da un programma vaccinale a due dosi nel giugno

Tabella I. Risposta anticorpale anti varicella in un regime a due dosi.

	V* (Regime ad 1 dose) (N = 1114)	V* (Regime a 2 dosi) (N = 1102)	
		6 settimane post-dose 1	6 settimane post-dose 2
Tasso di sieroconversione	98,9% (882/892)	99,5% (847/851)	99,9% (768/769)
Percentuale con titolo di anticorpi anti VZV ≥ 5 gpELISA* unità/ml (tasso di sieroconversione)	84,9% (757/892)	87,3% (743/851)	99,5% (765/769)
Titoli di media geometrica (gpELISA unità/ml)	12,0	12,8	141,5

Titoli di anticorpi anti varicella ≥ 5 gp Elisa unità 6 settimane dopo la somministrazione di VARIVAX possono essere considerati come correlati approssimativi di protezione ^{13 14}.

2006 (schedula: 1^a dose a 12-15 mesi e 2^a dose a 4-6 anni). I dati di sorveglianza tratti da studi osservazionali sull'efficacia di campo statunitensi hanno confermato che la vaccinazione universale per la varicella riduce il rischio di contrarre la malattia di circa il 90%. Inoltre, la riduzione del rischio di varicella è stata mantenuta a livello della popolazione per un periodo di oltre 14 anni (1995-2009) sia nei soggetti vaccinati che non vaccinati. L'efficacia di campo complessiva del vaccino al termine dello studio era del 90% senza alcuna indicazione di attenuazione nel tempo.

- *L'impatto/efficacia di campo in Spagna (Navarra)*¹⁶
Il programma vaccinale universale per la varicella che prevedeva 2 dosi di vaccino è stato introdotto in Navarra nei bambini di età compresa tra i 15 mesi e i 3 anni. Nel periodo 2009-2012, il tasso di copertura vaccinale era circa del 95% per la dose 1 e di circa l'89% per la dose 2. Nei bambini vaccinati di età compresa tra 1 e 8 anni, l'incidenza di varicella si è ridotta del 98,5% ($p < 0,0001$). Nei bambini di età < 15 anni, il tasso di incidenza delle ospedalizzazioni per varicella si è ridotto dell'89% ($p < 0,0001$). L'efficacia di campo per una dose almeno è stata stimata al 96,8% (CI 95%: 96,3-97,2).

- *L'impatto/efficacia di campo in Italia (Sicilia)*¹⁷
La regione Sicilia ha implementato il programma vaccinale universale per la varicella nel mese di gennaio 2003 con il vaccino anti varicella di ceppo Oka/Merck, offrendo attivamente e gratuitamente la vaccinazione a tutti i bambini nel secondo anno di età (15mo mese) e a tutti gli adolescenti suscettibili nel loro 12mo anno di età. Il tasso complessivo di copertura vaccinale per il 2007 era del 65,5% nei bambini di 12-23 mesi e del 12,1% negli adolescenti di 11-12 anni di età. Nei bambini di età compresa tra 0 e 14 anni, i tassi di incidenza di varicella si sono ridotti da 95,7 per 1.000 persone-anno nel 2004 a 9,0 per 1.000 persone-anno nel 2007.

Evidenze cliniche e di sicurezza post-marketing

Il profilo di sicurezza è ben documentato e accertato¹⁸⁻²⁰. Gli studi clinici che hanno coinvolto oltre 17.000 soggetti sani hanno dimostrato che il vaccino è generalmente ben tollerato¹¹. In uno studio in doppio cieco controllato con placebo su 956 soggetti sani di età compresa tra 12 mesi e 14 anni, 914 dei quali avevano conferma sierologica di suscettibilità alla varicella, i soli eventi av-

versi manifestatisi con un tasso significativamente maggiore nei soggetti che hanno ricevuto il vaccino rispetto a quelli che hanno ricevuto placebo sono stati dolore (26,7% vs 18,1%) e arrossamento (5,7% vs 2,4%) al sito di iniezione e rash simil-varicella in siti diversi da quello di iniezione (2,2% vs 0,2%). In uno studio post-marketing con il vaccino della varicella condotto per valutare la sicurezza a breve termine (follow-up a 30 o 60 giorni) in circa 86.000 bambini, di età compresa tra 12 mesi e 12 anni, e in 3.600 soggetti, di età ≥ 13 anni, non sono stati riportati eventi avversi gravi correlati al vaccino. Ad oggi, sono state distribuite in tutto il mondo 150 milioni di dosi e complessivamente, il favorevole profilo rischio/beneficio continua ad essere positivo²¹.

Il vaccino combinato tetravalente anti morbillo, parotite, rosolia e varicella Oka/Merck (MPRV*)

Questo vaccino combinato per morbillo, parotite, rosolia e varicella, disponibile nel mercato UE contiene le stesse componenti di MPR* e V* ed ha una lunga esperienza post-marketing, soprattutto negli USA (oltre 10 milioni di dosi distribuite in tutto il mondo).

La vaccinazione combinata per morbillo, parotite, rosolia e varicella contribuirà a migliorare l'immunizzazione universale dei bambini. Infatti, facilita la copertura contro quattro malattie morbillo, parotite, rosolia e varicella, riduce il numero di iniezioni e migliora la compliance alle raccomandazioni della schedula vaccinale²².

L'autorizzazione all'immissione in commercio è stata ottenuta in Europa il 6 aprile 2006²³ e il 12 settembre 2006²⁴ rispettivamente per la formulazione congelata (da conservare in congelatore ad una temperatura compresa tra -50°C e -15°C) e per la formulazione refrigerata, stabile in frigorifero (da conservare in frigorifero ad una temperatura compresa tra 2°C e 8°C). In Europa, viene utilizzata solo la formulazione stabile in frigorifero. Il vaccino quadrivalente contiene gli stessi ceppi dei vaccini MPR* e V* ma con una *maggiore potenza per la componente varicella* nella formulazione di MPRV*, necessaria per garantire una ottimale immunogenicità ed efficacia della componente varicella quando inserita nella formulazione quadrivalente. La dose minima di virus della varicella clinicamente accettabile contenuta nel vaccino MPRV* deve essere almeno 3,97 log₁₀ UFP²³ (Tab. II).

Tabella II. Dose dei virus del morbillo, parotite, rosolia e varicella contenuti nel vaccino, espressi come (\log_{10} CCID₅₀).

Vaccino	Potenza minima/Dose			
	Morbillo (\log_{10} CCID ₅₀)	Parotite (\log_{10} CCID ₅₀)	Rosolia (\log_{10} CCID ₅₀)	Varicella (\log_{10} PFU)
MPR*	3,0	4,3	3,0	–
V*	–	–	–	3,13
MPRV*	3,0	4,3	3,0	3,99

Il vaccino ha un ampio profilo di somministrazione concomitante in base al Riassunto delle Caratteristiche del Prodotto (RCP): MPRV* può essere somministrato in concomitanza con Prevenar e/o il vaccino per l'epatite A o con vaccini monovalenti o combinati che comprendono difterite, tetano, pertosse acellulare, *Haemophilus influenzae* di tipo b, poliomielite inattivata o antigeni dell'epatite B¹¹.

Dati di immunogenicità del vaccino MPRV* (varicella ceppo Oka/Merck)

Il programma di sviluppo clinico è stato disegnato in modo tale da dimostrare che il vaccino può fornire lo stesso livello di immunogenicità di MPR* e V*. L'efficacia è stata stabilita mediante l'uso di correlati sierologici di protezione precedentemente stabiliti nella valutazione dell'efficacia dei vaccini monovalenti per morbillo, parotite, rosolia e varicella.

Negli studi clinici il vaccino MPRV* ha dimostrato di provvedere lo stesso livello di immunogenicità di MPR* e V* per tutte le valenze, raggiungendo un alto livello di sieroprotezione contro morbillo, parotite, rosolia e varicella e offrendo elevata immunogenicità contro la varicella per qualsiasi scheda vaccinale (una o due dosi).

- Immunogenicità paragonabile di una dose di MPRV* rispetto a MPR* e V* somministrati in concomitanza in siti di iniezione diversi in bambini di età compresa tra 12 e 23 mesi:
 - In 4 studi clinici (protocolli 009, 011, 012, 013) condotti in bambini di età compresa tra 12 e 23 mesi con storia negativa di MPRV, i tassi di sieroconversione in seguito a singola dose di MPRV* sono risultati analoghi ai tassi di risposta immune indotti dalla somministrazione concomitante di una singola dose di V* e di MPR* in siti di iniezione diversi²³.
 - L'immunogenicità di MPRV* è stata tratta da 5

ampi studi clinici nei quali 6.987 soggetti hanno ricevuto una formulazione congelata oppure stabilizzata in frigorifero di MPRV*. Alla settimana 6 dopo una singola dose di MPRV*, i tassi di risposta vaccinale (definita in base ai criteri di sieroconversione) erano del 97,7% per il morbillo, del 96,3-98,8% per la parotite e del 98,8% per la rosolia. Il tasso di risposta vaccinale era del 90,9% (range tra 80,8% e 94,5%) per la varicella¹².

- Tassi elevati di sieroprotezione con aumento dei valori di GMT soprattutto per la varicella in seguito alla somministrazione di una seconda dose di MPRV* circa tre mesi dopo la prima dose; il che supporta l'uso di una seconda dose di MPRV* dopo una prima dose di MPRV*¹¹.
- In 2 studi clinici controllati (protocolli 009 e 011), 1.035 soggetti di età compresa tra 12 e 23 mesi al momento dell'arruolamento nello studio hanno ricevuto una seconda dose di MPRV circa 3 mesi dopo la prima dose di MPRV*.
- I tassi di risposta vaccinale erano del 99,4% per il morbillo, del 99,9% per la parotite, del 98,3% per la rosolia e del 99,4% per la varicella (≥ 5 gp ELISA Unità/ml). Inoltre, i valori di GMT (Geometric Mean Titers) in seguito alla seconda dose di MPRV* sono aumentati di circa 2 volte ciascuno per morbillo, parotite e rosolia e di circa 41 volte per la varicella.
- Immunogenicità paragonabile di MPRV*¹¹ somministrato come seconda dose in bambini di età compresa tra i 4 e i 6 anni (che avevano ricevuto precedentemente una prima dose di V* e MPR*) vs MPR* e V* (somministrati come seconda dose simultaneamente in siti di iniezione diversi), il che supporta l'uso di MPRV come seconda dose dopo una prima vaccinazione con MPR* e V*.

Evidenze cliniche e post-marketing di MPRV* (varicella ceppo Oka/Merck)

Il profilo di sicurezza di MPRV* (regime a una dose e a 2 dosi) è ben documentato ed accertato negli studi clinici. Il profilo di sicurezza di una dose di MPRV* è stato confrontato con la sicurezza della somministrazione di MPR*+V*. Sono stati segnalati eventi avversi sistemici correlati al vaccino tra i quali febbre e rash simil-morbillo ad un tasso significativamente maggiore da un punto di vista statistico nei soggetti che avevano ricevuto una singola dose di MPRV* rispetto a quelli che avevano ricevuto singole dosi di MPR* e V* ed entrambi gli eventi sono stati di breve durata e si sono risolti senza conseguenze a lungo termine. È importante notare che la percentuale complessiva di soggetti con reazioni avverse al sito di iniezione (dolore, dolorabilità, indolenzimento) era significativamente più ridotta nei soggetti che avevano ricevuto una singola dose di MPRV* (22%) rispetto a quelli che avevano ricevuto MPR* + V* (26,7%). Il rash al sito di iniezione era più frequente nei soggetti che avevano ricevuto una dose di MPRV* (2,3%) rispetto a quelli che avevano ricevuto i due vaccini come prima dose somministrati separatamente (1,5%). È stato anche valutato il profilo di sicurezza di una seconda dose di MPRV* e non sono stati segnalati eventi avversi gravi. Nel gruppo che aveva ricevuto MPRV* una percentuale statisticamente maggiore di soggetti ha manifestato eritema e gonfiore al sito di iniezione da 1 a 5 giorni dopo la vaccinazione²⁵. L'incidenza di rash simil-varicella è stata inferiore dopo la seconda dose di MPRV* rispetto a quella osservata dopo la somministrazione concomitante di MPR* e V* (rispettivamente 0,0% e 1,9%; $p = 0,01$) dose²⁶. Ad oggi, con oltre 10 milioni di dosi di MPRV*, distribuite in tutto il mondo, la revisione dei rapporti post-marketing continua a supportare il profilo di sicurezza del vaccino.

L'ECDC²⁷ conferma il buon profilo di tollerabilità dei vaccini singoli e combinati contro la varicella: gli eventi avversi più frequenti riportati sono state le reazioni al sito di iniezione come dolore, arrossamento o rash simil-varicella, generalmente lievi e transitori. Nessun evento avverso grave è stato osservato per i vaccini monovalenti e pochi sono stati riportati per i vaccini anti morbillo, parotite, rosolia e varicella. Le convulsioni febbrili sono un evento raro, che si verifica dopo la prima dose dei vaccini combinati e che si caratterizza come effetto classe dei vaccini combinati MPRV. Questi aumenti sono simili per tutti i vaccini anti morbillo, parotite, rosolia e varicella disponibili, suggerendo un effetto classe per questi vaccini

quadrivalenti. Nessun aumento di rischio di convulsioni febbrili è stato osservato dopo la seconda dose. Infine l'ECDC²⁷ riporta i dati di effectiveness del ceppo Oka/Merck: 90% di effectiveness mantenuta nel tempo e confermata a 14 anni. Lo studio di Baxter et al.¹⁵ nel 2013 ha mostrato che a 14 anni l'effectiveness del ceppo Oka/Merck è stata del 90% senza rischio di riduzione nel tempo. Negli Stati Uniti, l'Oka/Merck, unico vaccino approvato dalla FDA ed in commercio, ha mostrato un'effectiveness del 90% a livello di intera popolazione, vaccinata e non, facendo supporre un effetto di herd immunity della vaccinazione contro la varicella. L'Oka/Merck è l'unico vaccino approvato negli USA e la sorveglianza attiva mostra che l'incidenza della varicella si è ridotta del 90% nel periodo 1995-2005, con riduzione in tutte le fasce di età, inclusi i bimbi < 12 mesi e gli adulti, suggerendo un effetto di immunità di gregge che va oltre le età per cui la vaccinazione è raccomandata.

Varicella breakthrough: Il vaccino anti varicella ceppo Oka/Merck in confronto con il ceppo Oka/RIT

Negli Stati Uniti come in Europa, si raccomanda di vaccinare con due dosi di vaccino contro la varicella, con l'obiettivo di ridurre il rischio *breakthrough* della malattia. Sono disponibili dati di immunogenicità ed effectiveness che rilevano l'effetto che i vaccini ceppo Oka/Merck possono avere sulla riduzione dei casi di varicella *breakthrough*.

Nel recente Report ECDC²⁷ si riporta che in uno studio che ha analizzato il ceppo Oka/Merck, la stima dell'efficacia verso la varicella di ogni grado per un periodo di osservazione di 10 anni è stata del 94% per una dose e del 98% per due dosi di un vaccino monovalente. Sia il regime ad una dose, sia quello a due dosi sono stati efficaci al 100% contro la varicella di grado severo. L'efficacia del vaccino Oka/RIT è stata valutata con un follow-up a 35 mesi. L'efficacia del vaccino verso la varicella confermata di ogni grado è stata del 65,4% per una dose di un vaccino contenente ceppo Oka-RIT e del 94,9% con due dosi. L'efficacia del vaccino contro la varicella moderata-severa è stata del 90,7% dopo la prima dose e del 99,5% dopo due dosi. Uno dei vaccini monovalenti contro la varicella (Oka/RIT) ha mostrato una effectiveness più bassa vs la varicella di ogni grado (71,5%).

In uno studio in cui si valutava l'efficacia di campo del vaccino per la varicella specifica per tipo di vaccino utilizzato, durante sette epidemie negli asili nido in Germania, l'efficacia del vaccino per una dose di V OKA/RIT e MMRV OKA/RIT è risultata essere inferiore che per una dose di V OKA/Merck ²⁸: il rischio di BV era superiore per una dose di V OKA/RIT (RR = 2,8, 95% CI 1,0-7,8, p = 0,05) o MPRV OKA/RIT (RR = 2,4, 95% CI 0,7-8,3, p = 0,18) rispetto ad una dose di V OKA/Merck; è stata stimata un'efficacia di campo del vaccino (VE) per una dose di (V) Ceppo Oka/RIT pari al 56% (CI 95%: 29-72) ed un'efficacia di campo (VE) per una dose di (V) Oka/Merck pari all'86%* (CI 95%: 56-96) ²⁸ (Tab. III).

Riguardo alla comparazione tra vaccini di produttore diverso, uno studio che confrontava una singola dose dei due vaccini monovalenti anti varicella disponibili ha trovato tassi di sieroconversione leggermente superiori nei soggetti che avevano ricevuto V ceppo Oka/Merck ²⁹. Per quanto riguarda i vaccini tetravalenti, un recente studio di confronto dei due vaccini tetravalenti (quando co-somministrati con altri vaccini) ha dimostrato che MPRV ceppo Oka/RIT non era inferiore a MPRV ceppo Oka/Merck per le risposte alle componenti MMR, ma questo non veniva dimostrato per la componente varicella ³⁰.

Nello studio citato di Blatter et al., comparativo dei due vaccini MPRV disponibili, la formulazione del vaccino MPRV Oka/Merck congelata ha mostrato tassi di sieroconversione e GMTs superiori alla formulazione refrigerata del vaccino MPRV Oka/RIT (rispettivamente 86,7% vs 57,1% e 163,9 vs 83,8); il confronto in termini di risposta immunologica tra le formulazioni MPRV congelate di entrambi i vaccini ha mostrato una superiorità in termini di tassi di sieroconversione e GMTS del vaccino Oka/Merck rispetto a Oka/RIT (rispettivamente 86,7% vs 69,8% e 163,9 vs 110,1) (Tab. IV).

Conclusioni

In sintesi l'insieme dei dati disponibili per il vaccino combinato anti morbillo, parotite e rosolia (ceppi Enders-Edmonston, Jeryl Lynn, Wistar RA 27-3) (MPR*), per il vaccino anti varicella (V*), ceppo Oka/Merck, per il vaccino anti morbillo, parotite, rosolia e varicella ceppo Oka/Merck (MPRV*), derivante da studi clinici e da esperienze post marketing e di campo in diversi paesi europei ed extra-europei, conferma il favorevole profilo di immunogenicità, sicurezza d'uso, efficacia ed *effectiveness* della vaccinazione, avendo osservato la riduzione delle malattie

Tabella III. Efficacia di 1 dose di vaccino contro la varicella durante gli *outbreaks* in Germania, 2008-09 ²⁸.

Dosi	Vaccino	Tassi di attacco		Efficacia del vaccino
		Vaccinati	Non vaccinati	
1	V Oka/Merck (n = 48)	8% (p = 0,001)	48% (52/108)	86% (95%CI: 59-96) p = 0,001
1	V Oka/RIT (n = 77)	25% (p = 0,001)		56% (95%CI: 29-72) p = 0,001

Tabella IV. Confronto delle risposte immunologiche tra le formulazioni MPRV Oka/Merck vs Oka/RIT (da Blatter et al., 2012 ³⁰, mod.).

Confronto	VZV tassi di sieroconversione		VZV GMTs	
	MPRV Oka/Rit	MPRV Oka/Merck	MPRV Oka/Rit	MPRV Oka/Merck
MPRV Oka/Rit (refrigerata) N = 705 vs MPRV Oka/Merck (congelata) N = 389	57,1% (355/622)	86,7% (301/347)	83,8 (77,2, 91,0)	163,9 (151,8, 176,9)
MPRV Oka/Rit (congelata) N = 689 vs MPRV Oka/Merck (congelata) N = 389	69,8% (440/630)	86,7% (301/347)	110,1 (102,2, 118,5)	163,9 (151,8, 176,9)

prevenibili da vaccino nei paesi ove la vaccinazione è stata attuata con questi vaccini. In particolare, per i vaccini anti varicella ceppo Oka/Merck, si rileva che l'elevata immunogenicità e i dati di campo confermano che questi

vaccini sono uno strumento efficace per il controllo della varicella e dei casi di varicella *breakthrough*, fornendo un valido strumento per le strategie vaccinali e di sanità pubblica.

Bibliografia

- 1 M-M-RVAXPRO. Summary of Product Characteristics (SPC).
- 2 European Medicines Agency (EMA). M-M-RVAXPRO. Authorisation details. http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/000604/human_med_000907.jsp&mid=WC0b01ac058001d124 (last access: 04-08-2014).
- 3 M-M-RII
- 4 M-M-RVAXPRO. EPAR – Scientific Discussion. August 9th, 2006 http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Scientific_Discussion/human/000604/WC500030167.pdf (last access: 04-08-2014).
- 5 Mc Lean HQ, Fiebelkorn AP, Temte JL, et al. Prevention of measles, rubella, congenital rubella syndrome and mumps, 2013. Summary recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recomm Rep* 2013;62(RR-04):1-34.
- 6 Strelbel PM, Papania MJ, Dayan GH, et al. Measles vaccine. In: Plotkin SA, Orenstein W, Offit P, eds. *Vaccines*. Philadelphia: Saunders Elsevier 2013, pp. 352-387.
- 7 Reef SE, Plotkin SA. Rubella vaccine. In: Plotkin SA, Orenstein W, Offit P, eds. *Vaccines*. Philadelphia: Saunders Elsevier 2013, pp. 688-717.
- 8 Peltola H, Heinonen OP, Valle M, et al. The elimination of indigenous measles, mumps, and rubella from Finland by a 12-year, two-dose vaccination program. *N Engl J Med* 1994;331:1397-402.
- 9 MMR VAX PRO Periodic Safety Update Report 5 May 2012 to 4 May 2013.
- 10 Peltola H, Heinonen OP. Frequency of true adverse reactions to measles-mumps-rubella vaccine: a double-blind placebo-controlled trial in twins. *Lancet* 1986;1:939-42.
- 11 Varivax. Riassunto delle caratteristiche del Prodotto (RCP).
- 12 Lau YL, Vessey SJ, Chan IS, et al. A comparison of safety, tolerability and immunogenicity of Oka/Merck varicella vaccine and VARILRIX in healthy children. *Vaccine* 2002;20:2942-9.
- 13 Plotkin SA. Correlates of protection induced by vaccination. *Clin Vaccine Immunol* 2010;17:1055-65.
- 14 Li S, Chan IS, Matthews H, et al. Inverse relationship between six week postvaccination varicella antibody response to vaccine and likelihood of long term breakthrough infection. *Pediatr Infect Dis J* 2002;21:337-42.
- 15 Baxter R, Ray P, Tran TN, et al. Long-term effectiveness of varicella vaccine: a 14-year, prospective cohort study. *Pediatrics* 2013;131:e1389-96.
- 16 García Cenoz M, Castilla J, Chamorro J, et al. Impact of universal two-dose vaccination on varicella epidemiology in Navarre, Spain, 2006 to 2012. *Euro Surveill* 2013;18:20552.
- 17 Giammanco G, Ciriminna S, Barberi I, et al. Universal varicella vaccination in the Sicilian paediatric population: rapid uptake of the vaccination programme and morbidity trends over five years. *Euro Surveill* 2009;14 pii: 19321.
- 18 Sharrar RG, LaRussa P, Galea SA, et al. The postmarketing safety profile of varicella vaccine. *Vaccine* 2000;19:916-23.
- 19 Wise RP, Salive ME, Braun MM, et al. Postlicensure safety surveillance for varicella vaccine. *JAMA* 2000;284:1271-1279.
- 20 Black S, Shinefield H, Ray P, et al. Postmarketing evaluation of the safety and effectiveness of varicella vaccine. *Pediatr Infect Dis J* 1999;18:1041-6.
- 21 Varivax, Periodic Safety Update Report 17/03/2012 to 16/03/2013.
- 22 Ramet J. A new challenge for Europe: introducing a pediatric quadrivalent vaccine for measles, mumps, rubella, and varicella. *Int J Infect Dis* 2007;11(Suppl 2):S49-55.
- 23 European Medicines Agency (EMA). ProQuad. Authorisation details. http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/000622/human_med_000997.jsp&mid=WC0b01ac058001d124 (last access: 11-08-2014).
- 24 European Medicines Agency (EMA). Proquad. Procedural steps taken and scientific information after the authorization. http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/000622/human_med_000997.jsp&mid=WC0b01ac058001d124 (last access: 11-08-2014).
- 25 Reisinger KS, Brown ML, Xu J, et al. A combination measles, mumps, rubella, and varicella vaccine (ProQuad) given to 4- to 6-year-old healthy children vaccinated previously with M-M-RII and Varivax. *Pediatrics* 2006;117:265-72.
- 26 Shinefield H, Black S, Williams WR, et al. Dose-response study of a quadrivalent measles, mumps, rubella and varicella vaccine in healthy children. *Pediatr Infect Dis J* 2005;24:670-5.
- 27 Life-Long Immunisation in Europe: ECDC new Guidance on Universal Varicella Vaccination. http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/_layouts/forms/Publication_DispForm.aspx?List=4f55ad51-4aed-4d32-b960-af70113dbb90&ID=1253
- 28 Spackova M, Wiese-Posselt M, Dehnert M, et al. Comparative varicella vaccine effectiveness during outbreaks in day-care centres. *Vaccine* 2010;28:686-91.
- 29 Lau YL, Vessey SJ, Chan IS, et al. A comparison of safety, tolerability and immunogenicity of Oka/Merck varicella vaccine and VARILRIX in healthy children. *Vaccine* 2002;20:2942-9.
- 30 Blatter MM, Klein NP, Shepard JS, et al. Immunogenicity and safety of two tetravalent (measles, mumps, rubella, varicella) vaccines coadministered with hepatitis a and pneumococcal conjugate vaccines to children twelve to fourteen months of age. *Pediatr Infect Dis J* 2012;31:e133-40.



Infiammazione intestinale come segno di immunodeficienza

Alberto Tommasini¹
Martina Girardelli²
Anna Monica Bianco²
Flavio Faletta³

e Commissione di
Immunologia della SIAIP

Baldassarre Martire⁴
Raffaella Panza⁴
Clementina Canessa⁵
Fabio Cardinale⁶
Davide Montin⁷
Viviana Moschese⁸
Melengu Taulant⁹
Raffaele Badolato¹⁰ (coordinatore)

¹ Clinica Pediatrica, ² Laboratori di Immunopatologia, ³ Istituto di Genetica, IRCCS Burlo Garofolo, Trieste; ⁴ U.O. di Oncoematologia e Immunologia Pediatrica, Azienda Ospedaliera-Universitaria Policlinico-Giovanni XXII e Scuola di Specializzazione in Pediatria Università di Bari, Bari; ⁵ Ospedale Meyer, Firenze; ⁶ U.O. di Pediatria, Azienda Ospedaliera-Universitaria Policlinico-Giovanni XXII; ⁷ Ospedale Regina Margherita, Torino; ⁸ Università Tor Vergata, Roma; ⁹ Università La Sapienza, Roma; ¹⁰ Dipartimento di Scienze Cliniche e Sperimentali, Università di Brescia

Parole chiave: *simil-MICI, immunodeficienze primitive, malattia autoinfiammatorie*

Corrispondenza

Alberto Tommasini
Clinica Pediatrica, I.R.C.C.S.
materno infantile Burlo Garofolo
via dell'Istria, 65/1
34137 Trieste
E-mail: alberto.tommasini@burlo.
trieste.it

Abstract

Una malattia infiammatoria cronica dell'intestino può costituire, seppur raramente, il segno di un difetto congenito dell'immunità, anche in assenza di una tipica storia di infezioni, specialmente nei casi con esordio molto precoce. Pensare a un'immunodeficienza e avviare gli accertamenti immunologici e genetici necessari alla diagnosi può essere di particolare importanza per scegliere il migliore approccio terapeutico, che nei casi associati a immunodeficienza può comprendere strategie preventive delle infezioni ed il trapianto di cellule staminali emopoietiche.

Introduzione

Le malattie infiammatorie croniche dell'intestino (MICI) costituiscono una categoria eterogenea che comprende entità nosologiche abbastanza diverse tra loro, come la malattia di Crohn, la Rettocolite Ulcerativa e le Coliti Indeterminate¹. Le MICI sono considerate tipicamente malattie multifattoriali e il rischio di sviluppare la malattia è stato associato a numerose varianti geniche e fattori ambientali².

Tuttavia, più raramente, un'infiammazione cronica dell'intestino può costituire il segno di presentazione di un'immunodeficienza primitiva^{3,4}. Questa possibilità dovrebbe essere considerata soprattutto in quei casi di MICI con ricorrenza familiare e in quei casi il cui esordio avviene molto precocemente durante i primi mesi o anni di vita⁵. In realtà, le MICI ad esordio precoce, a prescindere dai rari casi riferibili a immunodeficienza, si connotano comunque per alcune caratteristiche distintive, come la frequente presentazione con il quadro della colite indeterminata e una maggiore difficoltà di trattamento con terapie convenzionali⁶. In questo contesto, non è sempre facile distinguere le "vere" MICI (multifattoriali) dai difetti immuni monogenici che si possono presentare con un simile quadro di infiammazione intestinale cronica.

L'identificazione dei casi con difetto immunitario monogenico tra i bambini con MICI a esordio precoce ha importanti risvolti pratici e conoscitivi. Per prima cosa, alcuni difetti immunitari associati a infiammazione intestinale cronica hanno anche un rilevante rischio infettivo, e giungere alla diagnosi tempestivamente può permettere di prevenire infezioni gravi o anche letali. In secondo luogo, nei casi più gravi di colite infiammatoria refrattaria ai trattamenti medici, può essere presa in considerazione la scelta chirurgica della colectomia. Al contrario questo trattamento potrebbe risultare inefficace e perfino dannoso nel caso di un difetto immunitario, dove potrebbero avere più senso procedure che restaurino il sistema immunitario come il trapianto di cellule staminali emopoietiche.

In realtà, la diagnosi di immunodeficienza in bambini con infiammazione intestinale ad esordio precoce dovrebbe far rigettare la diagnosi di MICI, che si riferisce ad entità nosologiche multifattoriali con precisi criteri diagnostici, e si dovrebbe piuttosto parlare di "patologia simil-MICI in paziente con immunodeficienza". In molti casi la malattia presenta effettivamente caratteristiche distintive rispetto alle MICI in senso stretto, soprattutto a livello

istopatologico. In altri casi, tuttavia, le lesioni sono assolutamente sovrapponibili a quelle riscontrate nelle MICI, suggerendo la presenza di un possibile continuum tra alcuni difetti immunitari congeniti e le MICI, in particolare nell'età pediatrica. Per questi motivi la diagnosi differenziale può essere molto difficile, sia per l'aspecificità dei quadri infiammatori intestinali sia per la complessità dei percorsi diagnostici. D'altra parte, è stato proposto che un utilizzo integrato degli esami immunologici e genetici possa permettere nella maggior parte dei casi una diagnosi precoce ⁵.

La presenza di casi simil-MICI associati a difetto immune solleva il paradosso per cui un simile quadro infiammatorio possa derivare da un difetto o al contrario da un eccesso di risposta immune ⁷. In alcune immunodeficienze, infatti, l'infiammazione intestinale sarebbe la conseguenza di un tentativo da parte del sistema immune adattativo di compensare un difetto dell'immunità innata. In altri casi, invece, il difetto genetico è al tempo stesso responsabile di una difettosa risposta immunitaria antimicrobica e di un eccesso, autoinfiammatorio, della risposta immune innata. Tener conto di questi due meccanismi patogenetici potrebbe avere rilevanza anche per lo sviluppo di nuovi approcci terapeutici alle MICI multifattoriali.

In ogni caso, il fatto che difetti apparentemente opposti possano avere simili conseguenze sull'infiammazione intestinale mette in risalto il ruolo critico del sistema immunitario mucosale nel mediare l'interazione dell'ospite con l'ambiente alimentare e microbico intestinale. Obiettivo della presente messa a punto è di descrivere alcuni difetti immunitari che possono presentarsi prevalentemente con manifestazioni infiammatorie intestinali e discutere gli aspetti clinici e laboratoristici che possono contribuire al sospetto e alla diagnosi di un difetto congenito dell'immunità.

Immunodeficienze combinate (SCID e CID)

Il difetto immunitario interessa la funzione dei linfociti T e, direttamente o indirettamente, altre funzioni immunitarie.

Come è possibile differenziarla dalle MICI classiche

Di solito la differenziazione dalle classiche MICI è facilitata dall'osservazione di un quadro più complesso, con sintomi infiammatori cutanei e infezioni inusuali o gravi. La gravità del quadro è rilevata dall'arresto di crescita o dalla perdita di peso. In questi casi, si impone una

diagnosi urgente che può essere facilmente indirizzata sulla base di dati di laboratorio eclatanti, come la linfopenia (da riferire ai percentili della conta linfocitaria per l'età), il sovertimento delle popolazioni linfocitarie e l'ipogammaglobulinemia. Tuttavia esistono difetti combinati meno gravi (CID), che possono avere una normale conta linfocitaria e allo stesso modo possono presentare i sintomi intestinali di una malattia infiammatoria cronica anche in assenza di una storia rilevante di infezioni. In questi casi, il singolo esame più utile ad indirizzare il sospetto è la valutazione dei linfociti a recente generazione timica che può essere eseguita per mezzo di citometria di flusso (RTE = recenti emigranti timici) o con analisi molecolare della ricombinazione del T cell receptor (TREC = T cell receptor excision circles) ⁸.

Sindrome di Wiskott Aldrich

La sindrome di Wiskott Aldrich (WAS) è una malattia X-recessiva caratterizzata dalla classica triade di piastrinopenia con micropiastrine, eczema e infezioni ricorrenti più o meno gravi ⁹. Tuttavia, non è raro che l'esordio avvenga nei primi giorni o nelle prime settimane di vita con un quadro di colite infiammatoria, anche in assenza di evidenti segni cutanei e prima della comparsa di infezioni ^{3 10}. Dopo i primi mesi di vita, può rendersi evidente anche una ipogammaglobulinemia che nei casi con infiammazione intestinale può risparmiare le IgA, i cui valori possono essere, al contrario, insolitamente elevati rispetto ad altre condizioni con ipogammaglobulinemia.

Come è possibile differenziarla dalle MICI classiche

La WAS deve essere sempre sospettata in un lattante maschio con colite infiammatoria associata a piastrinopenia, indipendentemente dalla presenza di altre possibili spiegazioni del reperto ematologico (piastrinopenie alloimmuni). Il basso volume piastrinico (MPV < 7 fl) rinforza fortemente la diagnosi, ma non è condizione necessaria per procedere con le indagini di conferma, che comprendono la valutazione citometrica dell'espressione della proteina WASP e l'analisi molecolare del gene WAS ¹¹.

Malattia Granulomatosa Cronica (CGD)

La CGD è un'immunodeficienza caratterizzata da gravi infezioni sostenute da germi intracellulari, come stafilococchi (e altri batteri catalasi positivi), nocardia, serratia e funghi (aspergillo, candida) ¹². L'esordio è di solito caratterizzato da infezioni profonde con

andamento subdolo e resistenza alle terapie (ascessi profondi, osteomieliti, linfadenopatie), o da polmoniti talora massive e ingravescenti. Tuttavia, soprattutto nei casi meno gravi come in alcune forme autosomiche recessive, l'esordio può avvenire con manifestazioni infiammatorie granulomatose, principalmente a carico dell'intestino, ma anche in altri distretti come la vescica¹³. A livello intestinale, la malattia riproduce le caratteristiche anatomopatologiche tipiche della malattia di Crohn da cui può essere distinta con molta difficoltà¹⁴. Di fatto, l'infiammazione intestinale viene trattata, similmente alla malattia di Crohn, con steroidi e inibitori del TNF, anche se recenti dati suggeriscono che esista una componente autoinfiammatoria dominata dall'IL-1, tuttavia gli inibitori di questa citochina non si sono rivelati efficaci nel controllare la colite infiammatoria in pazienti con CGD^{15 16}. Reazioni infiammatorie esagerate accompagnano anche le infezioni in corso di CGD, rendendo spesso indicata una terapia antinfiammatoria in associazione a quella antimicrobica.

Come è possibile differenziarla dalle MICI classiche

La diagnosi si basa sull'esecuzione del test del superossido (DHR test o NBT test), test di elevata sensibilità e specificità la cui esecuzione è raccomandabile in tutti i casi di MICI ad esordio precoce, e sulla conferma per mezzo di analisi genetica.

Altri difetti dei neutrofili

Una malattia infiammatoria cronica dell'intestino si può osservare, talora come segno di esordio, in soggetti con altri difetti dei neutrofili¹⁷. Ad esempio, i soggetti con difetto di adesione dei leucociti (LAD) hanno un aumentato rischio di sviluppare una malattia infiammatoria dell'intestino con caratteristiche cliniche che possono ricordare la malattia di Crohn o la colite indeterminata¹⁷. Similmente ai pazienti con CGD, i pazienti con LAD hanno solitamente una conta periferica elevata dei neutrofili. Al contrario, una MICI può essere ritrovata in pazienti con neutropenia, come ad esempio nel caso della glicogenosi di tipo 1b, dovuta a mutazioni del gene *SLC37A4* (1b) e più raramente nella glicogenosi tipo 1a, dovuta a mutazioni del gene *G6PC*. Anche in questo caso, il rischio di sviluppare la MICI sembra legato più alla disfunzione dei neutrofili che al loro semplice difetto numerico. Tra le sindromi con neutropenia che possono associarsi a MICI va ricordato anche il difetto di *G6PC3*¹⁸. Il quadro clinico complesso e lo studio metabolico contribuiscono al corretto inquadramento diagnostico. Il trattamento con

granulochine ha una discreta efficacia sui sintomi infiammatori¹⁹ mentre è stato dimostrato che il trapianto di cellule staminali emopoietiche è in grado di indurre una remissione duratura dei sintomi²⁰.

Come è possibile differenziarli dalle MICI classiche

Oltre all'infiammazione intestinale, i pazienti manifestano infezioni ricorrenti e disfunzioni a carico di diversi organi tra cui il fegato, con epatomegalia e ipoglicemie.

Ipogammaglobulinemie

Un'infiammazione gastrointestinale è di frequente riscontro nei pazienti con ipogammaglobulinemia, ma raramente si tratta di forme con le caratteristiche delle MICI ad esordio precoce. Di solito si possono osservare atrofia parziale dei villi intestinali in soggetti adolescenti o adulti in cui la diagnosi di ipogammaglobulinemia è già stata posta sulla base di altri sintomi più tipici. A volte il quadro è dovuto ad una vera e propria celiachia, ma la mancanza degli autoanticorpi tipici (antiendomio o anti-transglutaminasi) può renderne la diagnosi complicata²¹. Da tenere in considerazione, anche se eccezionale, la possibilità che l'ipogammaglobulinemia stessa sia secondaria ad una celiachia e possa regredire a dieta senza glutine²². Altre manifestazioni infiammatorie intestinali che si associano frequentemente alle ipogammaglobulinemie includono quadri di colite linfocitaria ed anche forme granulomatose simili alla malattia di Crohn^{4 23 24}. Più frequente, ma di scarso rilievo clinico, sono quadri di iperplasia nodulare linfoide. Esistono anche immunodeficienze più rare e complesse che possono presentare un esordio precoce con i sintomi di una MICI prima che con fatti infettivi, come nel caso dei difetti di *LRBA*, *CTLA4* e *IL21*²⁵⁻²⁸.

Come è possibile differenziarle dalle MICI classiche

Il rilievo dell'ipogammaglobulinemia, in particolare a carico delle IgG, e la storia di infezioni respiratorie aiutano nel sospetto di difetto immunitario. L'analisi del fenotipo linfocitario con studio dei marcatori di differenziamento dei linfociti B permette un migliore inquadramento del difetto. L'identificazione di un difetto di IgA durante lo screening della malattia celiaca deve sempre essere completata da un'approfondita valutazione immunologica per escludere immunodeficienze più gravi^{29 30}.

IPEX

La IPEX è un difetto immunitario legato al cromosoma X causato da mutazioni nel gene *FOXP3* che codifica per un fattore di trascrizione fondamentale per il funzionamento dei linfociti regolatori, principali artefici della tolleranza immune periferica³¹. Il difetto è associato a enteropatia autoimmune grave con esordio nei primi mesi di vita, accompagnata o seguita da molteplici manifestazioni autoimmunitarie d'organo (diabete di tipo 1, tiroidite, anemia emolitica autoimmune, piastrinopenia, alopecia etc), manifestazioni allergiche e spiccata ipereosinofilia. Non c'è, di solito, un aumentato rischio infettivo, ma le infezioni sono spesso in grado di peggiorare il quadro di attivazione immunitaria. Il quadro di enteropatia autoimmune è ben distinguibile rispetto a quello riscontrabile nelle MICI e merita sempre un approfondimento, anche con i test genetici per l'IPEX e per un ristretto numero di malattie simili³². Eccezionalmente la IPEX può presentarsi con un quadro simil-MICI ad esordio precoce³³.

Come è possibile differenziarla dalle MICI classiche

Un'enteropatia autoimmune in un maschio, specie se associata a diabete di tipo 1 o ad altre malattie autoimmuni e/o manifestazioni allergiche merita sempre un'analisi molecolare del gene *FOXP3*.

Difetto di XIAP

Mutazioni del gene *BIRC4*, codificante la proteina XIAP, sono state rinvenute inizialmente in casi con fenotipo simile a quello della malattia linfoproliferativa legata al cromosoma X (XLP) di tipo 1, in cui non erano state trovate mutazioni a carico del gene *SH2D1A*^{34 35}. La malattia, denominata XLP di tipo 2, presenta in realtà diverse caratteristiche distintive³⁶. I pazienti con difetto di XIAP si presentano spesso con un quadro caratterizzato da episodi ricorrenti di linfocitosi, con febbre elevata, linfoproliferazione e in un quinto dei casi con manifestazioni infiammatorie intestinali. Più recentemente, sono stati descritti casi in cui le manifestazioni di istiocitosi sono attenuate o meno evidenti mentre la clinica è dominata dai sintomi di una vera e propria malattia infiammatoria cronica dell'intestino. Il quadro clinico e patologico riproduce di solito quello di una malattia di Crohn, più raramente quello di una colite indeterminata. Mutazioni in *BIRC4* si ritrovano anche in casi di malattia di Crohn ad esordio adulto³⁷. La parentela con la malattia di Crohn di fatto non stupisce, ove si consideri che la proteina XIAP interagisce direttamente nella modulazione del segnale di NOD2, il cui coinvolgimento nella patogenesi della malattia è noto.

Come è possibile differenziarlo dalle MICI classiche

Dal punto di vista pratico, bisogna pensare ad un difetto di XIAP in tutti i maschi con malattia infiammatoria dell'intestino associata a fenomeni ricorrenti linfoproliferativi e/o febbrili, in particolare se con le caratteristiche suggestive di attivazione linfocitica (aumento della ferritina e almeno due tra: fibrinogeno normale o basso, trigliceridi aumentati, AST aumentate e riduzione della conta piastrinica). La colite infiammatoria associata a febbre ricorrente deve far pensare anche al difetto di mevalonato chinasi (vedi avanti).

Difetto dell'IL10 e del suo recettore

Difetti a carico dell'IL-10 e dei suoi recettori sono stati dimostrati responsabili di forme rare di malattia infiammatoria dell'intestino³⁸. I casi descritti sono caratterizzati dall'esordio nei primi mesi di vita con una malattia a coinvolgimento perianale con ascessi e fistole a difficile guarigione, che spesso richiedono interventi chirurgici senza tuttavia raggiungere mai una stabile remissione. L'esame istopatologico mostra la presenza di ascessi e ulcere con aspetti simili alla malattia di Crohn, ma non sono di solito rinvenuti i tipici granulomi³⁹. Il trapianto di cellule staminali emopoietiche è stato dimostrato in grado di guarire non solo il difetto immunitario ma anche di indurre remissione nella malattia infiammatoria dell'intestino³⁹. L'elevato rischio che questi pazienti siano sottoposti precocemente ad interventi chirurgici come la colectomia rende, proprio per questo motivo, di particolare importanza una diagnosi precoce per effettuare tempestivamente il trapianto.

Come è possibile differenziarli dalle MICI classiche

Il difetto immunitario si può esprimere anche a carico di altri organi con follicolite, infezioni respiratorie e artriti. Gli esami del sangue non mostrano alterazioni immuni specifiche, ma talora possono essere evidenziate anomalie minori come ridotto rapporto CD4/CD8 e talora ipogammaglobulinemia. La diagnosi è genetica e, nonostante la rarità della malattia, dovrebbe essere considerata in tutti i casi a esordio precoce e con andamento grave, in particolare in presenza di infezioni o di altri casi della stessa malattia nei familiari.

THES

La sindrome trico-entero-epatica (THES) è un'entità clinica ben definita che rientra nell'ambito più vasto delle cosiddette diarree sindromiche. L'esordio precoce si manifesta con ritardo di crescita intrauterino, diarrea secretoria cronica dal primo mese di vita e necessari-

tà di nutrizione parenterale. La malattia enterica può comprendere quadri di atrofia dei villi e in alcuni casi anche di colite infiammatoria. I geni noti causativi di THES sono *TTC37* e *SKIV2L*^{40 41}.

Come è possibile differenziarle dalle MICI classiche

Anche se possono essere presenti manifestazioni infiammatorie intestinali, la malattia è più chiaramente inquadrabile tra le "diarree croniche sindromiche". Vi è infatti la presenza di una facies caratteristica, capelli radi e lanuginosi e un variabile livello di immunodeficienza. L'evoluzione è caratterizzata dalla comparsa di epatopatia e infezioni ricorrenti⁴².

EDA-ID

La displasia ectodermica anidrotica associata ad immunodeficienza (EDA-ID) è una sindrome complessa che può presentarsi, tra l'altro, con un quadro di MICI^{43 44}. Il problema di diagnosi differenziale si presenta soprattutto nei primissimi anni di vita, quando le note dismorfologiche tipiche della malattia possono non essere ancora notate (distrofia ungueale, ipo-anidrosi, capelli radi, ipo-anodontia con denti conici). La EDA-ID è dovuta a mutazioni del gene *IKK-gamma* sul cromosoma X, che codifica per la proteina NEMO. Quest'ultimo è un modulatore del fattore di trascrizione NF- κ B, ed è coinvolto in numerose funzioni cellulari. L'associazione di sintomi displastici con un difetto immunitario è spiegata dal fatto che la proteina NEMO è il punto su cui convergono diversi segnali di maturazione sia delle cellule ectodermiche sia dei linfociti. Diversamente da quanto accade in altre forme di immunodeficienza, il trapianto di midollo può risultare inefficace nel trattamento dell'enteropatia o addirittura peggiorarla, probabilmente per un ruolo importante di NEMO anche nelle cellule epiteliali dell'intestino, che non vengono ovviamente modificate dal trapianto stesso⁴⁵.

Come è possibile differenziarla dalle MICI classiche

L'associazione con diverse caratteristiche fenotipiche (ipo-anidrosi, capelli radi, ipo-anodontia con denti conici, distrofia ungueale) e con le febbri da alterata sudorazione, soprattutto estive, può indirizzare verso una corretta diagnosi.

Malattie autoinfiammatorie

La malattia di Crohn è spesso classificata tra le malattie autoinfiammatorie multifattoriali. Tuttavia, i geni maggiormente coinvolti nel rischio della malattia possono favorire al tempo stesso una risposta infiamma-

torica sregolata e una difettosa risposta antimicrobica, in particolare a livello della mucosa intestinale⁴⁶⁻⁴⁸. Di fatto, benché sintomi infiammatori addominali siano comuni alla maggior parte della malattie autoinfiammatorie monogeniche, soltanto per il difetto di mevalonato chinasi può esistere un vero problema di diagnosi differenziale con le MICI, specialmente nei primi anni di vita^{49 50}. Tuttavia, il ricorso ad un trattamento empirico con cortisone che spesso viene avviato in lattanti o bambini con segni di MICI può nascondere la tipica ricorrenza e rendere la diagnosi più difficile. Il quadro istologico è di solito quello di una colite infiammatoria, ma nelle fasi acute si rilevano spesso un ingrossamento dei linfonodi mesenterici e talora un ispessimento delle anse del tenue. La corretta diagnosi è di particolare importanza perché in questi bambini l'inibizione dell'IL-1 ha maggiori probabilità di controllare il quadro rispetto agli inibitori del TNF-alpha⁵¹.

Come è possibile differenziarle dalle MICI classiche

Il comportamento con ricorrenza di episodi infiammatori altamente febbrili e con linfadenopatie periferiche e talora splenomegalia dovrebbe aiutare a discriminare con facilità questa condizione. Enterocolite con linfadenopatie e episodi ricorrenti di febbre possono ritrovarsi anche nel difetto di XIAP (vedi sopra) e nella sindrome auto infiammatoria con difetto di NLR4⁵².

Conclusioni e considerazioni terapeutiche

Le immunodeficienze primitive sono malattie rare e di solito caratterizzate da sintomi infettivi atipici, ricorrenti o gravi. Negli ultimi anni sono stati descritti numerosi casi di immunodeficienze primitive che possono presentarsi con manifestazioni infiammatorie prima ancora che con infezioni. Difetti di vario tipo possono condurre a sintomi infiammatori intestinali difficilmente distinguibili dalle MICI, specialmente nei casi con esordio molto precoce nei primi mesi o anni di vita. Pensare ad un difetto monogenico dell'immunità è molto importante per poter applicare il trattamento migliore che in questi casi può comprendere il trapianto di cellule staminali emopoietiche, ma anche per mettere in atto strategie efficaci per la prevenzione del rischio infettivo che può essere aggravato dai trattamenti immunosoppressori. Un'attenta valutazione clinica e immunologica può permettere un appropriato orientamento diagnostico⁵², ma nei casi più gravi un approccio genetico con simultanea analisi di numerosi geni candidati può essere giustificato per raggiungere rapidamente la diagnosi e ottimizzare il trattamento⁵³.

	SCID /CID	WAS	CGD	Altri difetti dei neutrofili	CVI	
Esordio	primi mesi	primi mesi	variabile	Primi anni	adulto	
Quadro tipico	Arresto di crescita, enteropatia, dermatite e infezioni	Piastrinopenia, eczema, infezioni + colite infiammatoria	Presentazione con sintomi intestinali prima che con infezioni (forme AR)	Storia di infezioni batteriche precede sintomi MICI Nelle glicogenosi, danno multi organo.	Infezioni, proliferazione linf. Enteropatia simil-celiaca o simil-Crohn.	
Colite	+	++	++/-			
Enteropatia	+	-	+			
Eczema	+	+	-			
Artrite/rash					-/+	
FUO						
Distrofia ectodermica	-	-	-	-	-	
Infezioni	Infezioni gravi da tutti i tipi di patogeni	Infezioni gravi da tutti i tipi di patogeni	Infezioni gravi da batteri catalasi positivi e funghi	Batteri capsulati	Infezioni da germi capsulati e virus	
Autoanticorpi	+/-	+/-	-	-	+	
IgA	↓/=	=/↑	=		↓	
IgG	↓/=	=/↓	=		↓	
IgM	↓/=	↓	=		↓/=/↑	
IgE	↑/=	=/↑	=		↓	
Neutrofili	=	=	↑		=	
Eosinofili	↑	=	=		=	
Esami indicativi	↓ linfociti T naive	PLT e MPV dim Espressione WASP	DHR test		↓ linfociti B memoria	
Esami genetici	RAG1, RAG2, DCLRE1C, LIG4, ADA, IL2RG, CD3G, ZAP7 ¹ , LCK, DOCK8	WASP	CYBB, NCF1, NCF2, NCF4, CYBA	G6PC3, ITGB2	LRBA, ICOS, IL21, CTLA4, CD40L	
Terapia attiva su infiammazione intestinale	HSCT	HSCT	HSCT Antinfiammatori Anti-IL1 ²	Steroidi, GM-CSF, HSCT	Antinfiammatori	
Rif. OMIM	RAG1: *179615 #603554 RAG2: *179616 #603554 LIG4: *601837 #606593 #102700	*300392 #301000	NCF1 *608512 #233700 NCF2: *608515 #233710 NCF4 *601488 #613960 CYBA: *608508 #233690	*611045 #612541	*606453 #614700	
Biblio	5, 54, 55, 56	57, 58, 59	60, 61, 62, 63, 14, 64	18	65, 26	

Linfociti T naive nella norma

	IPEX	XIAP	IL10/IL10R	THES	EDA-ID	M. autoinf
	primi mesi	variabile	primi anni	primo anno	primi anni	primo anno
	Enteropatia autoimmune, diabete T1, autoimmunità multipla	Riacutizzazioni associate a febbre, talora attivazione macrofagica	Enterocolite grave simile Crohn. Follicolite cronica	Diarrea intrattabile sindromica, scarsa crescita. Facies tipica.	Infiammazione infezioni. Displ. Ecotodermica	Infiammazione a carattere ricorrente
	-/+	+	+	-	+	+
	++	+	++	+	+	+
	+	-	-	-	-/+	-
	-/+	-	-	-	-/+	+
		+		-	+	++
	Distrofia unghie, alopecia (Autoimmune)	-	-	Capelli radi, tricolorressi nodosa	Ipoidrosi, ipodontia e denti conici	-
	Infezioni come scatenanti di attivazione immune	EBV, CMV, con sindrome da attivazione macrofagica	Follicolite	Batteri capsulati, candida (da catetere)	Infezioni da tutti i tipi di patogeni	Infezioni come scatenanti di riaccensioni infiammatorie
	+++	-	-	-	-	-
	↑/=	=	↑			↑
	=/↓	=	=/↑			=
	=/↓	=	=/↑			=/↑
	↑/=	=	=/↑			=
	=	=/↓				↑
	↑↑	=				=
		espressione XIAP, degranolazione NK			↓/= linfociti T naive	Mevalonato urinario
	FOXP3 , CD25, STAT5b	XIAP	IL10RA , IL10RB , IL10	TTC37, SKIV2L	IKBKG	MVK , NLRP12, NLRC4
	NPT, Rapamicina HSCT	HSCT	HSCT	NPT	HSCT Antinfiammatori	Anti-IL1
	*300292 #304790	*300079 #300635	IL10 *124092 IL10RA:*146933 #613148 IL10RB:*123889 #612567	*614589 #222470	*300248	MVK: *251170 #260920
	33	66, 67, 68	69, 70, 71	72	73, 74	75, 76

Take home messages

Quando pensare ad una immunodeficienza in una MICI

- Esordio nel primo anno di vita.
- Presenza di infezioni gravi o inusuali associate.

- Associazione con alterazioni cutanee.
- Associazioni con febbri non chiare o ricorrenti.
- Associazione con alterazioni ematologiche specifiche: ipogammaglobulinemia, ipereosinofilia, piastrinopenia, linfopenia.

Bibliografia

- Baumgart DC, Sandborn WJ. Inflammatory bowel disease: clinical aspects and established and evolving therapies. *Lancet* 2007;369:1641-57.
- de Lange KM, Barrett JC. Understanding inflammatory bowel disease via immunogenetics. *J Autoimmun* 2015;64:91-100.
- Cannioto Z, Berti I, Martelossi S, et al. IBD and IBD mimicking enterocolitis in children younger than 2 years of age. *Eur J Pediatr* 2009;168:149-55.
- Agarwal S, Mayer L. Diagnosis and treatment of gastrointestinal disorders in patients with primary immunodeficiency. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2013;11:1050-63.
- Uhlig HH, Schwerdt T, Koletzko S, et al. The diagnostic approach to monogenic very early onset inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2014;147:990-1007e1003.
- Aloi M, Lionetti P, Barabino A, et al. Phenotype and disease course of early-onset pediatric inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2014;20:597-605.
- Notarangelo LD, Tommasini A. Defective and excessive immunities in pediatric diseases. *Curr Pharm Des* 2012;18:5729-34.
- Somech R. T-cell receptor excision circles in primary immunodeficiencies and other T-cell immune disorders. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2011;11:517-24.
- Buchbinder D, Nugent DJ, Fillipovich AH. Wiskott-Aldrich syndrome: diagnosis, current management, and emerging treatments. *Appl Clin Genet* 2014;7:55-66.
- Hsieh KH, Chang MH, Lee CY, et al. Wiskott-Aldrich syndrome and inflammatory bowel disease. *Ann Allergy* 1988;60:429-31.
- Nakajima M, Yamada M, Yamaguchi K, et al. Possible application of flow cytometry for evaluation of the structure and functional status of WASP in peripheral blood mononuclear cells. *Eur J Haematol* 2009;82:223-30.
- Holland SM. Chronic granulomatous disease. *Hematol Oncol Clin North Am* 2013;27:89-99, viii.
- Freudenberg F, Wintergerst U, Roesen-Wolff A, et al. Therapeutic strategy in p47-phox deficient chronic granulomatous disease presenting as inflammatory bowel disease. *J Allergy Clin Immunol* 2010;125:943-946e941.
- Marks DJ, Miyagi K, Rahman FZ, et al. Inflammatory bowel disease in CGD reproduces the clinicopathological features of Crohn's disease. *Am J Gastroenterol* 2009;104:117-24.
- van de Veerdonk FL, Dinarello CA. Deficient autophagy unravels the ROS paradox in chronic granulomatous disease. *Autophagy* 2014;10:1141-2.
- Hahn KJ, Ho N, Yockey L, et al. Treatment with anakinra, a recombinant il-1 receptor antagonist, unlikely to induce lasting remission in patients with cgd colitis. *Am J Gastroenterol* 2015;110:938-9.
- Levine AP, Segal AW. What is wrong with granulocytes in inflammatory bowel diseases? *Dig Dis* 2013;31:321-7.
- Begun P, Patey N, Mueller P, et al. Inflammatory bowel disease and T cell lymphopenia in G6PC3 deficiency. *J Clin Immunol* 2013;33:520-5.
- Roe TF, Coates TD, Thomas DW, et al. Brief report: treatment of chronic inflammatory bowel disease in glycogen storage disease type 1b with colony-stimulating factors. *N Engl J Med* 1992;326:1666-9.
- Pierre G, Chakurakal G, McKiernan P, et al. Bone marrow transplantation in glycogen storage disease type 1b. *J Pediatr* 2008;152:286-8.
- Malamut G, Verkarre V, Suarez F, et al. The enteropathy associated with common variable immunodeficiency: the delineated frontiers with celiac disease. *Am J Gastroenterol* 2010;105:2262-75.
- Ameratunga R, Barker RW, Steele RH, et al. Profound reversible hypogammaglobulinemia caused by celiac disease in the absence of protein losing enteropathy. *J Clin Immunol* 2015;35:589-94.
- Washington K, Stenzel TT, Buckley RH, et al. Gastrointestinal pathology in patients with common variable immunodeficiency and X-linked agammaglobulinemia. *Am J Surg Pathol* 1996;20:1240-52.
- Khodadad A, Aghamohammadi A, Parvaneh N, et al. Gastrointestinal manifestations in patients with common variable immunodeficiency. *Dig Dis Sci* 2007;52:2977-83.
- Serwas NK, Kansu A, Santos-Valente E, et al. Atypical manifestation of LRBA deficiency with predominant IBD-like phenotype. *Inflamm Bowel Dis* 2015;21:40-7.
- Alangari A, Alsultan A, Adly N, et al. LPS-responsive beige-like anchor (LRBA) gene mutation in a family with inflammatory bowel disease and combined immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2012;130:481-488e482.
- Salzer E, Kansu A, Sic H, et al. Early-onset inflammatory bowel disease and common variable immunodeficiency-like disease caused by IL-21 deficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2014;133:1651-1659e1612.
- Zeissig S, Petersen BS, Tomczak M, et al. Early-onset Crohn's disease and autoimmunity associated with a variant in CTLA-4. *Gut* 2015 Dec;64:1889-97.
- Della Libera I, Martelossi S, Tommasini A. Selective IgA deficiency: ruling out coeliac disease and selective antibody deficiency to polysaccharides. *J Clin Immunol* 2013;33:1149.
- Bright P, Lock RJ, Unsworth DJ. Immunoglobulin A deficiency on serological coeliac screening: an opportunity for early diagnosis of hypogammaglobulinaemia. *Ann Clin Biochem* 2012;49:503-4.
- Gambineri E, Torgerson TR, Ochs HD. Immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, and X-linked inheritance (IPEX), a syndrome of systemic autoimmunity caused by mutations of FOXP3, a critical regulator of T-cell homeostasis. *Curr Opin Rheumatol* 2003;15:430-5.
- Verbsky JW, Chatila TA. Immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked (IPEX) and IPEX-related disorders: an evolving web of heritable autoimmune diseases. *Curr Opin Pediatr* 2013;25:708-14.
- Okou DT, Mondal K, Faubion WA, et al. Exome sequencing identifies a novel FOXP3 mutation in a 2-generation family with inflammatory bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2014;58:561-8.
- Rigaud S, Fondaneche MC, Lambert N, et al. XIAP deficiency in humans causes an X-linked lymphoproliferative syndrome. *Nature* 2006;444:110-4.

- 35 Marsh RA, Madden L, Kitchen BJ, et al. XIAP deficiency: a unique primary immunodeficiency best classified as X-linked familial hemophagocytic lymphohistiocytosis and not as X-linked lymphoproliferative disease. *Blood* 2010;116:1079-82.
- 36 Aguilar C, Latour S. X-linked inhibitor of apoptosis protein deficiency: more than an X-linked lymphoproliferative syndrome. *J Clin Immunol* 2015;35:331-8.
- 37 Speckmann C, Ehl S. XIAP deficiency is a mendelian cause of late-onset IBD. *Gut* 2014;63:1031-2.
- 38 Shah N, Kammermeier J, Elawad M, et al. Interleukin-10 and interleukin-10-receptor defects in inflammatory bowel disease. *Curr Allergy Asthma Rep* 2012;12:373-9.
- 39 Kotlarz D, Beier R, Murugan D, et al. Loss of interleukin-10 signaling and infantile inflammatory bowel disease: implications for diagnosis and therapy. *Gastroenterology* 2012;143:347-55.
- 40 Hartley JL, Zachos NC, Dawood B, et al. Mutations in TTC37 cause trichohepatoenteric syndrome (phenotypic diarrhea of infancy). *Gastroenterology* 2010;138:2388-2398, 2398.e1-2.
- 41 Fabre A, Charroux B, Martinez-Vinson C, et al. SKIV2L mutations cause syndromic diarrhea, or trichohepatoenteric syndrome. *Am J Hum Genet* 2012;90:689-92.
- 42 Fabre A, Breton A, Coste ME, et al. Syndromic (phenotypic) diarrhoea of infancy/tricho-hepato-enteric syndrome. *Arch Dis Child* 2014;99:35-8.
- 43 Zonana J, Elder ME, Schneider LC, et al. A novel X-linked disorder of immune deficiency and hypohidrotic ectodermal dysplasia is allelic to incontinentia pigmenti and due to mutations in IKK-gamma (NEMO). *Am J Hum Genet* 2000;67:1555-62.
- 44 Faletra F, Bruno I, Berti I, et al. A red baby should not be taken too lightly. *Acta Paediatr* 2012;101:e573-7.
- 45 Fish JD, Duerst RE, Gelfand EW, et al. Challenges in the use of allogeneic hematopoietic SCT for ectodermal dysplasia with immune deficiency. *Bone Marrow Transplant* 2009;43:217-21.
- 46 Marks DJ. Defective innate immunity in inflammatory bowel disease: a Crohn's disease exclusivity? *Curr Opin Gastroenterol* 2011;27:328-34.
- 47 Elliott TR, Hudspith BN, Rayment NB, et al. Defective macrophage handling of *Escherichia coli* in Crohn's disease. *J Gastroenterol Hepatol* 2015;30:1265-74.
- 48 Plantinga TS, Crisan TO, Oosting M, et al. Crohn's disease-associated ATG16L1 polymorphism modulates pro-inflammatory cytokine responses selectively upon activation of NOD2. *Gut* 2011;60:1229-35.
- 49 Oretti C, Barbi E, Marchetti F, et al. Diagnostic challenge of hyper-IgD syndrome in four children with inflammatory gastrointestinal complaints. *Scand J Gastroenterol* 2006;41:430-6.
- 50 Levy M, Arion A, Berrebi D, et al. Severe early-onset colitis revealing mevalonate kinase deficiency. *Pediatrics* 2013;132:e779-83.
- 51 De Pieri C, Taddio A, Insalaco A, et al. Different presentations of mevalonate kinase deficiency: a case series. *Clin Exp Rheumatol* 2015;33:437-42.
- 52 Romberg N, Al Moussawi K, Nelson-Williams C, et al. Mutation of NLRC4 causes a syndrome of enterocolitis and autoinflammation. *Nat Genet* 2014;46:1135-9.
- 53 Kelsen JR, Dawany N, Moran CJ, et al. Exome sequencing analysis reveals variants in primary immunodeficiency genes in patients with very early onset inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2015;149:1415-24.
- 54 Notarangelo LD. Functional T cell immunodeficiencies (with T cells present). *Annu Rev Immunol* 2013;31:195-225.
- 55 Felgentreff K, Perez-Becker R, Speckmann C, et al. Clinical and immunological manifestations of patients with atypical severe combined immunodeficiency. *Clin Immunol* 2011;141:73-82.
- 56 Villa A, Notarangelo LD, Roifman CM. Omenn syndrome: inflammation in leaky severe combined immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2008;122:1082-6.
- 57 Catucci M, Castiello MC, Pala F, et al. Autoimmunity in wiskott-Aldrich syndrome: an unsolved enigma. *Front Immunol* 2012;18:3:209.
- 58 Castiello MC, Bosticardo M, Pala F, et al. Wiskott-Aldrich Syndrome protein deficiency perturbs the homeostasis of B-cell compartment in humans. *J Autoimmun* 2014;50:42-50.
- 59 Cannioto Z, Berti I, Martellosi S, et al. IBD and IBD mimicking enterocolitis in children younger than 2 years of age. *Eur J Pediatr* 2009;168:149-55.
- 60 Schäppi MG, Smith VV, Goldblatt D, et al. Colitis in chronic granulomatous disease. *Arch Dis Child* 2001;84:147-51.
- 61 Matute JD, Arias AA, Wright NA, et al. A new genetic subgroup of chronic granulomatous disease with autosomal recessive mutations in p40 phox and selective defects in neutrophil NADPH oxidase activity. *Blood* 2009;114:3309-15.
- 62 Al-Bousafy A, Al-Tubuly A, Dawi E, et al. Libyan boy with autosomal recessive trait (P22-phox Defect) of chronic granulomatous disease. *Libyan J Med* 2006;1:162-71.
- 63 Muise AM, Xu W, Guo CH, et al. NADPH oxidase complex and IBD candidate gene studies: identification of a rare variant in NCF2 that results in reduced binding to RAC2. *Gut* 2012;61:1028-35.
- 64 Dhillon SS, Fattouh R, Elkadri A, et al. Variants in nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase complex components determine susceptibility to very early onset inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2014;147:680-689.e2.
- 65 Butterworth T. Community care-giving and taking. *Nurs Times* 1989;85:19.
- 66 Pachlopnik Schmid J, Canioni D, Moshous D, et al. Clinical similarities and differences of patients with X-linked lymphoproliferative syndrome type 1 (XLP-1/SAP deficiency) versus type 2 (XLP-2/XIAP deficiency). *Blood* 2011;117:1522-9.
- 67 Worthey EA1, Mayer AN, Syverson GD, et al. Making a definitive diagnosis: successful clinical application of whole exome sequencing in a child with intractable inflammatory bowel disease. *Genet Med* 2011;13:255-62.
- 68 Zeissig Y, Petersen BS, Milutinovic S, et al. XIAP variants in male Crohn's disease. *Gut* 2015;64:66-76.
- 69 Glocker EO, Kotlarz D, Boztug K, et al. Inflammatory bowel disease and mutations affecting the interleukin-10 receptor. *N Engl J Med* 2009;361:2033-45.
- 70 Glocker EO, Frede N, Perro M, et al. Infant colitis-it's in the genes. *Lancet* 2010;376:1272.
- 71 Glocker EO, Kotlarz D, Klein C, et al. IL-10 and IL-10 receptor defects in humans. *Ann N Y Acad Sci* 2011;1246:102-7.
- 72 Fabre A, Martinez-Vinson C, Goulet O, Badens C. Syndromic diarrhea/Tricho-hepato-enteric syndrome. *Orphanet J Rare Dis* 2013;8:5.
- 73 Cheng LE, Kanwar B, Tcheurekdjian H, et al. Persistent systemic inflammation and atypical enterocolitis in patients with NEMO syndrome. *Clin Immunol* 2009;132:124-31.
- 74 Mizukami T, Obara M, Nishikomori R, et al. Successful treatment with infliximab for inflammatory colitis in a patient with X-linked anhidrotic ectodermal dysplasia with immunodeficiency. *J Clin Immunol* 2012;32:39-49.
- 75 Bader-Meunier B, Florkin B, Sibilia J, et al. Mevalonate kinase deficiency: a survey of 50 patients. *Pediatrics* 2011;128:e152-9.
- 76 Bianco AM, Girardelli M, Vozzi D, et al. Mevalonate kinase deficiency and IBD: shared genetic background. *Gut* 2014;63:1367-8.



Nuove frontiere sui probiotici ed il loro utilizzo

a cura del Gruppo di Studio
sul Microbiota della SIAIP

Naire Sansotta¹
Anna Rugiano²
Diego Peroni³
Pierluigi Vuilleumier⁴
Giuseppe Baviera⁵ (coordinatore)

¹ Clinica Pediatrica, Università degli Studi di Verona; ² Università di Roma "La Sapienza", Dipartimento di Pediatria e NPI; ³ Professore di Pediatria, Università di Pisa; ⁴ A.O. Santobono-Pausilipon, Napoli; ⁵ Pediatra Libero Professionista

Parole chiave: *microbiota, probiotici, eczema, allergie, gastroenteriti, prematurità, infezioni*

Corrispondenza

G. Baviera
E-mail: baviera.g49@gmail.com

Abstract

Durante gli ultimi 10 anni le ricerche sui probiotici si sono evolute rapidamente tanto che ad oggi si contano circa 15.000 articoli su questa voce recensiti su PubMed. Nello stesso tempo si è evoluto al pari il mercato internazionale per la messa in commercio di prodotti a base di probiotici con l'indicazione al trattamento o alla prevenzione delle più disparate patologie di tipo allergico, gastroenterologico e metabolico oltre che al mantenimento del benessere psicofisico in generale. Nonostante ci sia un'evidenza scientifica che il consumo di probiotici possa essere benefico alla nostra salute, questa evidenza è fondata e rilevante solamente per le forme specifiche che sono state testate e non è una affermazione valida per tutti i probiotici in commercio. In questo articolo il Gruppo di Studio sul Microbiota della SIAIP si è posto l'obiettivo di valutare criticamente gli studi finora pubblicati relativi all'utilizzo dei probiotici nel trattamento e/o nella prevenzione delle patologie allergiche e gastroenterologiche esaminandone i ceppi utilizzati e i risultati ottenuti. Ne viene fuori un quadro che lascia ancora aperta la porta a ulteriori sperimentazioni con protocolli di studio univoci per modalità di trattamento e ceppi utilizzati, oltre che la ricerca di ulteriori ceppi e/o combinazioni di ceppi che possano effettivamente risultare benefici per la salute dell'uomo e specifici per la prevenzione o il trattamento delle patologie per le quali vengono studiati e messi in commercio.

Introduzione

"I probiotici sono microrganismi vivi che, quando somministrati in quantità adeguate, conferiscono un beneficio alla salute dell'ospite". Diventa fondamentale quindi la loro vitalità.

Essi possono essere usati in una vasta gamma di patologie e questo può essere spiegato considerando quello che è il loro contributo sul microbiota intestinale. Il microbiota intestinale altro non è che quella che un tempo veniva chiamata "flora batterica intestinale" o "microflora" ovvero l'insieme dei microrganismi presenti nel tubo digerente. La flora intestinale umana si evolve nel tempo e ciò è influenzato dalle interazioni tra l'ambiente, la dieta, i microbi stessi e altri fattori. Nei primi giorni di vita si assiste ad una colonizzazione intestinale peculiare per ogni bambino e dipendente dal tipo di parto. Poco dopo la nascita la flora intestinale di un bambino nato da parto spontaneo assomiglia a quella di sua madre. Al contrario, i bambini nati da parto cesareo acquisiscono una flora costituita da microbi presenti sulla cute materna seguita dalla progressiva acquisizione di una flora più complessa, anche se in genere più lentamente rispetto a quella dei neonati nati da parto spontaneo. Il microbiota si stabilisce precocemente e può modificarsi nella vita, cambiando con l'età, la dieta, la localizzazione geografica, l'apporto di integratori alimentari e farmaci e altre influenze ambientali.

Squilibri nella struttura o nella funzione del microbiota sono implicati nella crescente propensione verso una vasta gamma di malattie infiammatorie, come le malattie allergiche, l'asma, le malattie infiammatorie intestinali (IBD), l'obesità e le malattie mentali. Una dieta equilibrata, l'uso di probiotici e prebiotici e il trapianto di microbiota fecale si sono mostrati come modulatori positivi del microbiota intestinale ¹.

Negli esseri umani i probiotici più comunemente usati sono batteri del genere *Lactobacillus* o *Bifidobacterium*, ed un lievito, il *Saccharomyces boulardii*. A seconda del paese, gli stessi microrganismi probiotici possono essere disponibili come integratori alimentari, come prodotti farmaceutici registrati e/o incorporati in prodotti alimentari ². I criteri minimi per la definizione di un probiotico sono: identificazione di genere, specie e ceppo; assenza di azione patogena per l'uomo; suscettibilità agli antibiotici; resistenza agli acidi biliari, ai succhi gastrici e agli enzimi digestivi; capacità di adesione alla mucosa intestinale; capacità di ridurre l'adesione dei patogeni; capacità di proliferazione e colonizzazione del tratto intestinale; conservazione della stabilità e vitalità; capacità di mostrare effetti positivi sulla salute in studi randomizzati in doppio cieco verso placebo (RCT) ¹.

Meccanismi d'azione

Diversi sono i meccanismi d'azione individuati e ciascun probiotico può svolgere una specifica azione in grado di influenzare il metabolismo dell'organismo ospite. Gli effetti dei probiotici sono altamente specifici per cui l'azione di un ceppo non può essere automaticamente attribuita ad altri ceppi pur appartenenti alla stessa specie. Tra le innumerevoli azioni attribuite ai probiotici e dimostrate da studi in vitro ed in vivo vanno ricordate: l'incremento della funzione barriera dell'epitelio intestinale con riduzione della permeabilità intestinale; l'aumento delle IgA secretorie; la produzione di batteriocine antimicrobiche; la capacità di colonizzare l'intestino in competizione con agenti patogeni; la capacità di modulare la risposta immunitaria attraverso la diminuzione delle citochine proinfiammatorie ed aumento di quelle regolatorie; la produzione di acidi grassi a catena corta; la regolazione del transito intestinale; la normalizzazione del microbiota danneggiato; l'aumento del turnover enterocitario ².

Evidenze scientifiche sul loro utilizzo

Per i loro diversi meccanismi d'azione trovano largo utilizzo nelle patologie pediatriche. I dati della letteratura si concentrano particolarmente sul loro utilizzo nelle seguenti classi terapeutiche:

- nel trattamento di patologie del tratto gastrointestinale;
- nel trattamento e prevenzione delle infezioni ricorrenti;
- nel trattamento e prevenzione delle malattie allergiche;
- nel trattamento delle complicanze della prematurità.

Analizzeremo adesso nel dettaglio le singole classi.

I probiotici nel trattamento di patologie del tratto gastrointestinale

Nelle gastroenteriti acute il trattamento si basa soprattutto su una corretta reidratazione che, in base alle condizioni cliniche del bambino, potrà essere o per via endovenosa o per via orale (SRO). Numerosi studi hanno dimostrato che l'utilizzo di probiotici in corso di diarrea ne riduce la durata. In particolare l'ESPGHAN raccomanda di utilizzare probiotici a base di *Lactobacillus Rhamnosus GG* (LGG) (bassa qualità delle prove; forte raccomandazione) e *S. Boulardii* (bassa qualità delle prove; forte raccomandazione) per un periodo di almeno 5-7 giorni; non viene consigliato il *Lactobacillus Reuteri* e il *L. Acidophilus LB* per la qualità molto bassa delle prove e le deboli raccomandazioni ^{3,4}.

La diarrea è un comune effetto collaterale della terapia antibiotica, soprattutto quando viene utilizzato un farmaco ad ampio spettro. L'uso dei probiotici ha mostrato efficacia nel ridurre l'incidenza di diarrea secondaria a terapia antibiotica. I risultati di una metanalisi del 2012, condotta su 12000 pazienti, ha rilevato una significativa riduzione del rischio di diarrea associata a terapia antibiotica nel gruppo di pazienti trattati con probiotici rispetto al gruppo di controllo [rischio relativo (RR) 0,58, IC 95% 0,50-0,68] ⁵ e i due probiotici più efficaci sono risultati il *S. Boulardii* (sei RCT, n = 1653, RR 0,43, CI 95% 0,3-0,6) ⁶ e il LGG (cinque RCT, n = 445, RR 0,48, CI 95% 0,26-0,89) ⁶.

Altri studi hanno dimostrato come l'uso di LGG nei bambini ospedalizzati è in grado di ridurre il rischio di diarrea acquisita in ospedale ⁷.

Passando al trattamento delle coliche gassose, la somministrazione di probiotici ed in particolare del *L. Reuteri*, si è dimostrata in grado di ridurre i tempi di pianto

nei neonati con coliche allattati al seno materno. A dimostrazione di ciò uno studio effettuato in Italia ha rivelato che rispetto al placebo la somministrazione di *L. Reuteri* tutti i giorni a partire dal 3° giorno di vita e per 90 giorni ha comportato una riduzione significativa del tempo di pianto da coliche nel lattante ⁸.

Recenti studi su pazienti adulti hanno dimostrato che l'aggiunta di probiotico (*S. Boulardii*) alla triplice terapia standard nei pazienti con infezione da *H. pylori*, riduce significativamente il rischio di effetti avversi legati alla terapia e aumenta il tasso di eradicazione ⁹. Tuttavia, ad oggi, rimangono ancora pochi gli studi e le evidenze su bambini risultano scarse.

Un ulteriore utilizzo dei probiotici è consigliato nel trattamento della colite ulcerosa (secondo le linee guida ECCO e ESPGHAN) ¹⁰, ma finora non ci sono evidenze di efficacia nel trattamento della malattia di Crohn ¹¹.

I probiotici nel trattamento e prevenzione delle infezioni ricorrenti

L'uso dei probiotici ha mostrato effetti positivi nel ridurre le infezioni, in particolare quelle delle alte vie respiratorie. Una Cochrane Review del 2015 ha valutato 12 studi per un totale di 3720 partecipanti tra bambini, adulti e anziani (età media circa 40 anni); i dati raccolti hanno evidenziato come i probiotici sono stati migliori rispetto al placebo nel ridurre il numero di episodi di flogosi acuta delle alte vie respiratorie, nel ridurre la durata media di ogni singolo episodio, nel ridurre l'uso di antibiotici e nel ridurre il numero di giorni di assenza da scuola ¹².

Diversi studi eseguiti su bambini hanno dimostrato che l'utilizzo del probiotico riduce il tasso di recidive di infezioni. Andando ad analizzare i singoli ceppi, notiamo che la somministrazione di LGG nei bambini ha ridotto l'incidenza di otite media acuta, il rischio di flogosi delle alte vie respiratorie e l'uso di antibiotici ¹³. Tuttavia non vi era in generale alcuna differenza tra i gruppi a rischio di contrarre infezioni respiratorie. Un altro RCT condotto su bambini indonesiani malnutriti a cui facevano assumere latte supplementato con *L. Reuteri* vs bambini che assumevano latte normale, ha evidenziato come il lattobacillo riducesse il rischio di diarrea ¹⁴.

Un RCT in doppio cieco condotto in Croazia su 210 bambini che frequentavano l'asilo nido a cui veniva dato *Bifidobacterium animalis subsp. B. lactis* BB-12 per un periodo di 3 mesi, non ha dimostrato alcun

effetto sulla prevenzione delle malattie del tratto gastrointestinale e di quello respiratorio ¹⁵. Per concludere, i dati disponibili suggeriscono che alcuni probiotici come il LGG e *L. Reuteri* possono avere qualche effetto sulle infezioni acquisite in comunità, tuttavia necessitano ulteriori studi per avere dati di provata efficacia.

I probiotici nella prevenzione delle allergie

L'utilità dei probiotici nella prevenzione e/o nel trattamento delle patologie allergiche appare ancora controverso nonostante la grande mole di lavori e di RCT condotti su un significativo numero di pazienti in età pediatrica. La difficoltà per la ricerca di raccomandazioni forti è dovuta principalmente alla variabilità nella definizione degli studi, nella definizione dei soggetti a rischio, negli outcome ricercati, nella scelta dei ceppi di probiotici, nella loro associazione, nella durata e nell'epoca (pre/post natale) della somministrazione. A questi vanno aggiunti fattori specifici dell'ospite, quali il rischio allergico e la predisposizione genetica, oltre che fattori ambientali quali ambiente di vita rurale o urbano, abitudini alimentari, contaminazioni ambientali. La variabilità di questi fattori rende il confronto dei dati ottenuti dagli RCT, anche correttamente impostati ed eseguiti, di difficile comparazione.

Allergie alimentari

Iniziamo col dire che non ci sono prove a sostegno che l'uso di probiotici possa prevenire le allergie alimentari. Questa affermazione è ben supportata dall'Accademia Europea di Allergologia e Immunologia Clinica (EAACI) che nel 2014 è arrivata a queste conclusioni sulla base dei risultati di una revisione sistematica (data della ricerca: settembre 2012) ^{16 17}.

Recentemente un lavoro di Tang MLK e al. ha studiato, in bambini con allergie alle arachidi sottoposti a immunoterapia desensibilizzante orale, l'utilizzo di un probiotico come adiuvante versus un gruppo di controllo. I risultati immunologici indicano una specifica modulazione della risposta immunitaria verso le arachidi (riduzione della risposta allo skin prick test, riduzione dei livelli di IgE-specifiche e aumento dei livelli di IgG4-specifiche per arachidi). Tale terapia risulta promettente, tuttavia necessitano ulteriori lavori fondamentali per confermare se i soggetti hanno raggiunto

una tolleranza definitiva e per delineare il contributo del probiotico ¹⁸.

Eczema

L'eczema è la patologia più studiata in cui l'utilizzo dei probiotici in terapia o prevenzione è presente con numerosi RCT e revisioni sistematiche. Le prime pubblicazioni sull'utilizzo dei probiotici nel trattamento delle malattie allergiche in generale e dell'eczema associato ad allergia alle proteine del latte in particolare, risalgono alla fine degli anni 90 ¹⁸. Questi studi inizialmente indirizzati all'utilizzo di singoli ceppi di probiotici sono stati successivamente estesi alle associazioni di 2 o più ceppi, prevalentemente del genere *Lactobacillus* e *Bifidobacteri*, sia nel trattamento che nella prevenzione dell'eczema.

Nel 2009 nella revisione Cokrane, Boyle et al. ¹⁹ concludevano che i probiotici non producevano un significativo miglioramento nello SCORAD e quindi non andavano raccomandati per la terapia dell'eczema. In questa revisione gli autori sottolineavano la discordanza dei risultati negli studi di metanalisi, osservando che tale discordanza si riduceva notevolmente nei tre studi che utilizzavano lo stesso ceppo di probiotico (LGG), suggerendo che nell'eczema l'effetto del probiotico è ceppo specifico a differenza di quanto osservato, ad esempio, nella prevenzione dell'enterite necrotizzante o nella terapia della diarrea post-infettiva. Boyle et al. concludevano che la ricerca negli anni successivi avrebbe potuto individuare nuovi ceppi di probiotici in grado di modificare significativamente il decorso dell'eczema.

Negli anni successivi, proseguendo un orientamento iniziato negli anni 2000, la ricerca è stata orientata soprattutto sulla loro azione preventiva verso la comparsa dell'eczema, mediante la loro somministrazione, per periodi di tempo variabili nei diversi studi, in donne in gravidanza, in donne che allattano al seno, e nei lattanti sani ^{20 21}. Le revisioni sistematiche hanno incluso RCT che avevano come outcome principale la prevenzione dell'eczema effettuata sia con singoli ceppi di probiotici che con l'associazione di più ceppi per lo più del genere *Lactobacillus* e *Bifidobacteri*. Se si considerano gli RCT sull'utilizzo di singoli probiotici, si può assumere che l'LGG sia il ceppo più studiato con la scuola Finlandese che ne ha valutato l'efficacia nella prevenzione della DA sin dal 2001 ²²⁻²⁴ con esiti promettenti confermati dai lavori di Wickens con follow

up a 2-4 e 6 anni ²⁵⁻²⁷. L'LGG appare il probiotico più utilizzato negli RCT che considerano un trattamento durante la gravidanza per 2-4 settimane ²⁸⁻³⁰ o da 4-6 settimane prima del parto a sei mesi postpartum ³¹, dalla 36ª settimana di gestazione ³², dal secondo trimestre di gravidanza ³³ associandolo, nella maggioranza degli studi, anche al periodo dell'allattamento.

Nella Tabella I vengono elencate alcune delle revisioni sistematiche e/o metanalisi significative sia per numero di studi inseriti che per omogeneità degli stessi, avendo come outcome principale la prevenzione dell'eczema. Il primo dato evidente è che la revisione di migliaia di articoli ha selezionato, nelle metanalisi da noi considerate, non più di 30 RCT di cui diversi riportati più volte in quanto follow up della stessa popolazione iniziale. Altro aspetto è la prevalenza degli studi di scuola Finlandese sia come numero di pubblicazioni che come numerosità della popolazione.

Naturalmente da tutti gli autori delle metanalisi riportate è stato valutato il rischio di distorsione dei dati in relazione a: differenze nella provenienza e selezione delle popolazioni trattate, rischio allergico, utilizzo di un solo probiotico o di miscele, epoca e durata dello trattamento.

La metanalisi di Doege ³⁴ prende in considerazione sette (nove, se si considerano i follow up di Kalimaki) RCT compresi tra il 2001 ed il 2009. Di questi ben 5 su 7 sono della scuola Finlandese (58% del peso totale). I lavori selezionati appaiono comparabili sia per la scelta della popolazione, anche per l'epoca e la durata del trattamento e per i probiotici utilizzati. Infatti in tutti gli RCT era previsto il trattamento alla mamma durante la gravidanza e l'allattamento pur con differente durata ed utilizzo di lattobacilli singolarmente (4 RCT) o in associazione (3 RCT). Gli autori individuano nella metanalisi due sottogruppi – il primo con singoli ceppi di lattobacilli, il secondo con una miscela di lattobacilli e/o bifidobatteri – riscontrando una correlazione positiva con il trattamento con singoli ceppi (RR 0,82 CI 95% 0,70-0,95).

La revisione di Dan Dang ³⁵ veniva effettuata su 18 RCT (di cui 5 di scuola Finlandese) effettuati tra il 2001 ed il 2012 di cui 7 con Lattobacilli, 2 con Bifidobatteri, 6 con una miscela di ceppi e 3 con prebiotici. Gli studi differivano sia nella modalità di effettuazione del trattamento (4 prevedevano il trattamento solo nella mamma, 7 solo nei lattanti e 7 in entrambe) che nella sua durata. Gli autori concludono che i probiotici possono ridurre l'incidenza dell'eczema (31% in meno)

Tabella I. Sintesi metanalisi.

Probiotico	Doege 2012	Dan Dang 2013	Panduru 2015	Zuccotti 2015	Cuelo Garcia 2015
Lattobacilli	Kaliomaki 2001				
Lattobacilli	Kaliomaki 2003		Kaliomaki 2003		Kaliomaki 2003
Lattobacilli	Kaliomaki 2007		Kaliomaki 2007		Kaliomaki 2007
Multiceppi	Kutuinen 2009		Kutuinen 2009		Kutuinen 2009
Multiceppi	Kukkonen 2007	Kukkonen 2007	Kukkonen 2007		Kukkonen 2007
Multiceppi			Kukkonen 2009		
Multiceppi					Kukkonen 2011
Multiceppi	Huurre 2008				
Lattobacilli			Rautava 2002	Rautava 2002	Rautava 2002
Multiceppi		Rautava 2006	Rautava 2006		
Multiceppi		Rautava 20012	Rautava 2012	Rautava 2012	Rautava 2012
Lattobacilli	Kopp 2008				
Lattobacilli		Taylor 2007	Taylor 2007	Taylor 2007	Taylor 2007
Multiceppi		Kim 2010	Kim 2010	Kim 2010	Kim 2010
Lattobacilli		West 2009			West 2009
Multiceppi		Niers 2009	Niers 2009	Niers 2009	Niers 2009
Multiceppi		Dotterud 2010	Dotterud 2010		Dotterud 2010
Multiceppi		Soh 2009	Soh 2009		Soh 2009
Lattobacilli	Abrahamsson 2007				
Lattobacilli		Abrahamsson 2013	Abrahamsson 2013	Abrahamsson 2013	Abrahamsson 2013
Lattobacilli		Boyle 2011	Boyle 2011	Boyle 2011	Boyle 2011
Lattobacilli			Ou CY 2012	Ou CY 2012	Ou CY 2012
Lattobacilli	Wickens 2008				
Lattobacilli			Wickens 2012	Wickens 2012	Wickens 2012
Lattobacilli			Wickens 2013	Wickens 2013	Wickens 2013
Bifidobatteri			Wickens 2008	Wickens 2008	Wickens 2008
Bifidobatteri			Wickens 2012	Wickens 2012	Wickens 2012
Bifidobatteri			Wickens 2013	Wickens 2013	Wickens 2013
Lattobacilli			Prescott 2008	Prescott 2008	Prescott 2008
Bifidobatteri			Jensen 2012		
Lattobacilli				Botcher 2008	
Multiceppi					Allen 2010
Multiceppi					Allen 2012
Bifidobatteri					Hascoet 2011
Multiceppi					Marshan 2008
Multiceppi					Morisset 2011
Prebiotici		Ziegler 2006			
Prebiotici		Arsanoglu 2008			

nei bambini di età inferiore a 2 anni. Contrariamente ai risultati di Doege, l'utilizzo di associazioni di ceppi delle specie Lattobacilli e Bifidobatteri porta tale riduzione al 42 %. Gli autori ammettono che andrebbe ricercata un maggiore standardizzazione sia nella durata del trattamento sia nella scelta dei ceppi utilizzati e/o delle associazioni degli stessi.

La review di Panduru ³⁶ ha incluso 16 RCT di cui dieci Europei, due Asiatici e uno della Nuova Zelanda, comprendenti in totale 3495 soggetti. Un solo studio prevedeva il trattamento solo in epoca prenatale ²⁹ quattro in epoca post natale e undici in entrambe. Otto studi prevedevano l'utilizzo di un solo ceppo mentre in otto veniva utilizzata l'associazione di due o più ceppi. Gli autori concludono che i probiotici hanno un effetto protettivo sia nella popolazione generale (OR 0,66 CI 95% 0,57-0,77 p < 0,001), che in quella con rischio allergico (OR 0,53, CI 95% 0,34-0,83 p < 0,005) quando la somministrazione avviene sia in epoca pre- che post natale, mentre non vi è un effetto protettivo dei probiotici verso la comparsa dell'eczema quando somministrati esclusivamente in periodo postnatale. Dall'analisi per sottogruppi non vengono riportate differenze significative

tra trattamenti con singoli ceppi o associazione degli stessi.

Anche la metanalisi di Zuccotti ³⁷ riguardante 17 studi per un totale di 4755 bambini ha confermato come i neonati trattati con probiotici sia in epoca prenatale che post natale avevano un RR significativamente più basso per l'eczema rispetto ai controlli (RR 0,78; CI 95% 0,69-0,89). Anche nel caso delle review di Zuccotti per una maggiore comparabilità dei dati si procedeva ad una stratificazione degli stessi in sottogruppi che indicavano una maggiore efficacia dell'utilizzo di miscele di probiotici (RR 0,54; CI 95% 0,43-0,68) rispetto all'utilizzo di Lattobacilli (RR 0,90; CI 95% 0,77-1,05) o Bifidobacteria (RR 0,89; CI 95% 0,73-1,08) in quest'ultimo caso comprendente il solo studio, già citato, di Wickens.

Gli autori hanno anche riportato i risultati, ottenuti dai diversi autori oggetto della metanalisi, nella prevenzione di asma, wheezing e rinocongiuntivite, in cui non viene dimostrato un significativo effetto preventivo: asma (RR 0,99; CI 95% 0,77-1,27), wheezing (RR 1,02; CI 95%: 0,89-1,17), rinocongiuntivite (RR 0,91; CI 95%: 0,67-1,23).

La revisione sistematica di studi randomizzati effettuata

Tabella II. Confronto tra i risultati generali e sottogruppi.

	Doege 2012	Dan Dang 2013	Panduru 2015	Zuccotti 2015	Cuelo Garcia 2015
Tutti	RR 0,79 CI 0,71-0,95	RR 0,69 CI 0,62-0,78	RR 0,64 CI 0,56-0,74	RR 0,78 CI 0,69-0,89	RR 0,72 CI 0,61-0,85
Sottogruppi					
Lattobacilli	RR 0,82 CI 0,71-0,95	RR 0,78 CI: 0,60- 1,01	RR 0,70 CI 0,54-0,89	RR 0,90 CI 0,77-1,05	
Bifidobatteri	-	RR 0,82 CI 0,63-1,07	-	RR 0,89 CI 0,73-1,08	
Multiceppi	RR 0,92 CI 0,83-1,02	RR 0,58 CI 0,44-0,76	RR 0,62 CI 0,52-0,74	RR 0,54 CI 0,43-0,68	
Prenatale	-	-	RR 0,66 0,37-1,17	-	RR 0,72 CI 0,61-0,85
Pre e post natale	-	-	RR 0,61 CI 0,52-0,71	-	RR 0,61 CI 0,61-0,85
Postnatale*: mamma	-	-	0,95 CI 0,63-1,45	-	RR 0,61 CI 0,50-0,74
lattante	-	-			0,81 CI 0,70-0,94

* Associati alla somministrazione anche in gravidanza

da Cuello-Garcia et al.³⁸ mostra l'effetto dei probiotici quando somministrati a donne in gravidanza, a donne durante l'allattamento e/o lattanti. Gli autori concludono che i probiotici riducono il rischio di eczema quando usati nelle donne durante l'ultimo trimestre di gravidanza (RR, 0,71; CI 95%, 0,60-0,84) o quando usati durante l'allattamento (RR, 0,57; CI 95%, 0,47-0,69) o quando somministrati ai neonati (RR, 0,80; CI 95%, 0,68-0,94). Tuttavia le prove di efficacia sono ancora limitate e per questo si richiedono ulteriori studi; dalla revisione non emergono prove a sostegno circa la prevenzione di altre forme allergiche.

Sulle indicazioni date da questo studio si sono basate le linee guida dell'organizzazione mondiale di Allergologia (WAO) pubblicate nel 2015 che sostengono l'utilizzo di probiotici nei casi sopra affrontati per ridurre il rischio di eczema, tuttavia non si può sostenere il loro uso routinario in quanto mancano dati circa la dose, il tipo e la durata della somministrazione³⁹. Nei diversi studi venivano considerati ben 12 diversi probiotici con il *Lactobacillus Rhamnosus* che era però stato considerato in più di uno studio. Sembra che il *Lactobacillus Rhamnosus GG* riduca il rischio di eczema a 12 e a 24 mesi ma la differenza tra il *Lactobacillus Rhamnosus GG* e il gruppo di controllo non era statisticamente significativa. Si attendono quindi ulteriori studi chiarificatori sui singoli ceppi probiotici e non su probiotici in generale⁴⁰.

I probiotici nel trattamento delle complicanze della prematurità

L'indicazione più promettente per l'uso dei probiotici è quella di prevenire l'enterocolite necrotizzante (NEC) e la mortalità nel neonato pretermine. Il tratto GI risulta sterile alla nascita e sin dal passaggio nel canale del parto viene progressivamente colonizzato da batteri patogeni e non; la somministrazione di probiotici è in grado di aumentare l'aliquota di batteri non patogeni. Diverse metanalisi hanno dimostrato che i probiotici in quanto tali, danno un vantaggio. Tuttavia, la formulazione (tipi di organismi e dose) e la durata del trattamento rimangono ancora poco chiari. Una recente revisione sistematica risalente al Dicembre 2014 ha messo a confronto il gruppo che riceveva la somministrazione di *L. Reuteri* con il gruppo di controllo e ha dimostrato una significativa riduzione del tempo di distensione addominale, della durata dell'ospedalizzazione

e del rischio di insorgenza di sepsi tardiva nel gruppo che riceveva il probiotico⁴¹. Non vi sono dati sufficienti per quanto riguarda i benefici e i potenziali effetti negativi per i neonati con peso estremamente basso (< 1000 grammi alla nascita)⁴².

Conclusioni

Nella prevenzione delle malattie allergiche in generale i risultati degli studi non sono stati in grado di dimostrare un effetto benefico della somministrazione di probiotici se non nella prevenzione dell'eczema. Anche in questo caso i risultati ottenuti nei singoli studi appaiono scarsamente comparabili con conclusioni a volte discordanti. Ciò è da attribuire in primo luogo alle numerose variabili in grado di influenzare la risposta clinica in vivo rispetto ai dati pur positivi della sperimentazione in vitro.

Più in dettaglio tali variabili, nel caso della prevenzione della dermatite atopica nel lattante, sono legate a condizioni proprie dell'ospite quali: fattori genetici (ad esempio con la scelta di trattare soggetti a rischio allergico o popolazione generale), tipo di parto (cesareo o spontaneo), alimentazione al seno o con latte di formula, patologie concomitanti (allergia alle proteine del latte vaccino), infezioni intestinali, utilizzo di antibiotici. Anche la scelta della modalità di somministrazione, (da soli o in associazione ad alimenti, più frequentemente il latte), può rappresentare una variabile importante soprattutto nel caso di presenza di rischio allergico e quindi di eventuale sensibilizzazione ad alimenti. Altre e non meno importanti variabili sono legate ai probiotici, alle dosi utilizzate, all'epoca ed alla durata dei trattamenti ma soprattutto alla scelta dello specifico ceppo da utilizzare singolarmente o in associazione a specie e/o ceppi differenti che, non essendo tassonomicamente identici, non consentono di trasferire automaticamente le proprietà di un ceppo ad un altro appartenente alla stessa specie. Allo stesso modo si deve considerare come la risposta in vitro non sia sempre predittiva di una identica risposta in vivo. Infine vanno rimarcati i fattori ambientali quali le condizioni sociali e l'ambiente di vita urbano o rurale e le abitudini alimentari che sembrano condizionare il microbioma intestinale.

Una prassi abbastanza consolidata negli ultimi anni e che gli studi più recenti confermano, tende a privilegiare il trattamento mediante l'associazione di

ceppi diversi appartenenti alle specie *Lactobacillus* e *Bifidobacteri*. Anche in questo caso l'efficacia dell'associazione mediante un effetto sinergico o additivo, pur supportata da studi in vitro^{43,44}, non è sempre confermata dagli studi in vivo. In tal caso è ipotizzabile che l'associazione di ceppi e/o specie differenti possa determinare una azione di tipo competitivo con conseguente riduzione o perdita delle proprietà dei ceppi utilizzati singolarmente.

In ogni caso, pur con la presenza di bias nella selezione delle popolazioni da trattare, sia i singoli RCT che le metanalisi considerate sembrerebbero ammettere un effetto benefico della somministrazione di probiotici durante l'ultimo trimestre di gravidanza, per un periodo variabile dalle 2 alle 12 settimane, sulla prevenzione della dermatite atopica sia nella popolazione generale che in quella a rischio allergico. I dati riguardanti la supplementazione con probiotici durante l'allattamento al seno o con formula non appaiono sufficienti a dimostrare lo stesso effetto protettivo verso l'insorgenza della dermatite atopica tranne che essa

non venga associata alla somministrazione alla madre durante la gravidanza. In quest'ultimo caso riportiamo i dati di Simpson et al. che hanno utilizzato, in donne in gravidanza, un latte supplementato con 3 differenti ceppi di probiotici (*Lactobacillus rhamnosus* GG, *L. Acidophilus* La-5 e *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb-12) dalla 36^a settimana e successivamente sino al 3° mese di vita riportando nel follow up a 2 e 6 anni una riduzione dell'incidenza cumulativa della dermatite atopica RR di 0,64 (CI 95% 0,39-1,07, p=0,086; NNT= 10)⁴⁵.

È auspicabile che gli studi futuri siano progettati ed effettuati in modo da ridurre al minimo la variabilità dei dati in relazione a: scelta della popolazione da trattare; scelta dei ceppi di probiotici utilizzati singolarmente o in associazione; epoca e durata del trattamento. Allo stesso modo sarebbe utile un'analisi del rapporto costi/benefici in relazione alla scelta dell'utilizzo dei probiotici in prevenzione in una popolazione selezionata per rischio allergico o nella popolazione generale.

Bibliografia

- Hill C, Guarner F, Reid G, et al. Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2014;11:506.
- FAO/WHO. Food and Agriculture Organization – World Health Organization. Report of a Joint FAO/WHO Working group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food, 2002.
- Szajewska H, Guarino A, Hojsak I, et al. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition. Use of probiotics for management of acute gastroenteritis: a position paper by the ESPGHAN Working Group for Probiotics and Prebiotics. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2014;58:531-9.
- Guarino A, Ashkenazi S, Gendrel D, et al. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition/European Society for Pediatric Infectious Diseases evidence-based guidelines for the management of acute gastroenteritis in children in Europe: update 2014. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2014;59:132-52.
- Hempel S, Newberry SJ, Maher AR, et al. Probiotics for the prevention and treatment of antibiotic-associated diarrhea: a systematic review and meta-analysis. *JAMA* 2012;307:1959-69.
- Szajewska H, Kołodziej M. *Saccharomyces boulardii* in the prevention of antibiotic-associated diarrhea. *Aliment Pharmacol Ther* 2015;42:793-801.
- Szajewska H, Wanke M, Patro B. Meta-analysis: the effects of *Lactobacillus rhamnosus* GG supplementation for the prevention of healthcare-associated diarrhoea in children. *Aliment Pharmacol Ther* 2011;34:1079-87.
- Indrio F, Di Mauro A, Riezzo G, et al. Prophylactic use of a probiotic in the prevention of colic, regurgitation, and functional constipation: a randomized clinical trial. *JAMA Pediatr* 2014;168:228-33.
- Szajewska H, Horvath A, Kołodziej M. Systematic review with meta-analysis: *Saccharomyces boulardii* supplementation and eradication of *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2015;41:1237-45.
- Turner D, Levine A, Escher JC, et al. European Crohn's and Colitis Organization; European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition. Management of pediatric ulcerative colitis: joint ECCO and ESPGHAN evidence-based consensus guidelines. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2012;55:340-61.
- Ruemmele FM, Veres G, Kolho KL, et al. ECCO/ESPGHAN. Consensus guidelines of ECCO/ESPGHAN on the medical management of pediatric Crohn's disease. *J. Crohns Colitis* 2014;8:1179-207.
- Hao Q, Dong BR, Wu T. Probiotics for preventing acute upper respiratory tract infections. *Cochrane Database Syst Rev* 2015;(2):CD006895.
- Liu S. *Lactobacillus rhamnosus* GG supplementation for preventing respiratory infections in children: a meta-analysis of randomized, placebo-controlled trials. *Indian Pediatr* 2013;50:377.
- Agustina R, Kok FJ, van de Rest O, et al. Randomized trial of probiotics and calcium on diarrhea and respiratory tract infections in Indonesian children. *Pediatrics* 2012;129:e1155-64.
- Hojsak I, Močić Pavić A, Kos T, et al. *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* in prevention of common infections in healthy children attending day care centers - Randomized, double blind, placebo-controlled study. *Clin Nutr* 2016;35:587-91.

- 16 Muraro A. EAACI Food Allergy and Anaphylaxis Guidelines Group. EAACI food allergy and anaphylaxis guidelines. Primary prevention of food allergy. *Allergy* 2014;69:590.
- 17 De Silva D. EAACI Food Allergy and Anaphylaxis Guidelines Group. Primary prevention of food allergy in children and adults: systematic review. *Allergy* 2014;69:581.
- 18 Tang MLK. Administration of a probiotic with peanut oral immunotherapy: a randomized trial. *J Allergy Clin Immunol* 2015;135:737-44.
- 19 Boyle RJ, Bath-Hextall FJ, Leonardi-Bee J, et al. Probiotics for treating eczema. *Cochrane Database Syst Rev* 2008;(4):CD006135.
- 20 Pelucchi C, Chatenoud L, Turati F, et al. Probiotics supplementation during pregnancy or infancy for the prevention of atopic dermatitis: a meta-analysis. *Epidemiology* 2012;23:402-14.
- 21 Betsi GI, Papadavid E, Falagas ME. Probiotics for the treatment or prevention of atopic dermatitis: a review of the evidence from randomized controlled trials. *Am J Clin Dermatol* 2008;9:93-103.
- 22 Kalliomäki M, Salminen S, Arvilommi H, et al. Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomised placebo controlled trial. *Lancet* 2001;357:1076-9.
- 23 Kukkonen K, Savilahti E, Hahtela T, et al. Probiotics and prebiotic galacto-oligosaccharides in the prevention of allergic diseases: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Allergy Clin Immunol* 2007;119:192-8.
- 24 Dotterud C, Storrø O, Johnsen R, et al. Probiotics in pregnant women to prevent allergic disease: a randomized, double-blind trial. *Br J Dermatol* 2010;163:616-23.
- 25 Wickens K, Black PN, Stanley TV, et al. A differential effect of 2 probiotics in the prevention of eczema and atopy: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *J Allergy Clin Immunol* 2008;122:788-94.
- 26 Wickens K, Black P, Stanley TV, et al. A protective effect of *Lactobacillus rhamnosus* HN001 against eczema in the first 2 years of life persists to age 4 years. *Clin Exp Allergy* 2012;42:1071-9.
- 27 Wickens K, Stanley TV, Mitchell EA, et al. Early supplementation with *Lactobacillus rhamnosus* HN001 reduces eczema prevalence to 6 years: does it also reduce atopic sensitization? *Clin Exp Allergy* 2013;43:1048-57.
- 28 Kalliomäki M, Salminen S, Poussa T, et al. Probiotics during the first 7 years of life: a cumulative risk reduction of eczema in a randomized, placebo-controlled trial. *J Allergy Clin Immunol* 2007;119:1019-21.
- 29 Kalliomäki M, Salminen S, Poussa T, et al. Probiotics and prevention of atopic disease: 4-year follow-up of a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2003;361:1869-71.
- 30 Kalliomäki M, Salminen S, Arvilommi H, et al. Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2001;357:1076-9.
- 31 Kopp MV, Hennemuth I, Heinzmann A, et al. Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of probiotics for primary prevention: no clinical effects of *Lactobacillus* GG supplementation. *Pediatrics* 2008;121:e850-6.
- 32 Boyle RJ, Ismail IH, Kivivuori S, et al. *Lactobacillus* GG treatment during pregnancy for the prevention of eczema: a randomized controlled trial. *Allergy* 2011;66:509-16.
- 33 Ou CY, Kuo HC, Wang L, et al. Prenatal and postnatal probiotics reduces maternal but not childhood allergic diseases: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Clin Exp Allergy* 2012;42:1386-96.
- 34 Doege K, Grajecki D, Zyriax BC, et al. Impact of maternal supplementation with probiotics during pregnancy on atopic eczema in childhood—a meta-analysis. *Br J Nutr* 2012;107:1-6.
- 35 Dang D, Zhou W, Lun ZJ, et al. Meta-analysis of probiotics and/or prebiotics for the prevention of eczema. *J Int Med Res* 2013;41:1426-36.
- 36 Panduru M, Panduru NM, Sălăvăstru CM, et al. Probiotics and primary prevention of atopic dermatitis: a meta-analysis of randomized controlled studies. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2015;29:232-42.
- 37 Zuccotti G and Task Force on Probiotics of the Italian Society of Neonatology Probiotics for prevention of atopic diseases in infants: systematic review and meta-analysis. *Allergy* 2015;70:1376.
- 38 Cuello-Garcia CA, Brożek JL, Fiocchi A, et al. Probiotics for the prevention of allergy: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Allergy Clin Immunol* 2015;136:952-61.
- 39 Fiocchi A, Pawankar R, Cuello-Garcia C, et al. World Allergy Organization-McMaster University Guidelines for Allergic Disease Prevention (GLAD-P): probiotics. *World Allergy Organ J* 2015;8:4.
- 40 Szajewska H, Shamir R, Turck D, et al. Recommendations on probiotics in allergy prevention should not be based on pooling data from different strains. *J Allergy Clin Immunol* 2015;136:1422.
- 41 Athalye-Jape G, Rao S, Patole S. *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 as a probiotic for preterm neonates: a strain-specific systematic review. *J Parenter Enteral Nutr* 2016;40:783-94.
- 42 Al Faleh K, Anabrees J. Probiotics for prevention of necrotizing enterocolitis in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev* 2014;(4):CD005496.
- 43 Shi CZ, Chen HQ, Liang Y, et al. Combined probiotic bacteria promotes intestinal epithelial barrier function in interleukin-10-gene-deficient mice. *World J Gastroenterol* 2014;20:4636-47.
- 44 Nébot-Vivinus M, Harkat C, Bziouche H, et al. Multispecies probiotic protects gut barrier function in experimental models. *World J Gastroenterol* 2014;20:6832-4.
- 45 Simpson MR, Dotterud CK, Storrø O, et al. Perinatal probiotic supplementation in the prevention of allergy related disease: 6 year follow up of a randomised controlled trial. *BMC Dermatol* 2015;15:13.