

Nuovi patogeni respiratori

MASSIMILIANO DON¹, MARIO CANSIANI²

¹UOC di Pediatria, Presidio Ospedaliero "Sant'Antonio", San Daniele del Friuli, Udine

²Servizio di Allergo-Pneumologia Pediatrica, Clinica Pediatrica, DPMSC, Università di Udine

La lista dei patogeni respiratori emergenti, negli ultimissimi anni, si è allargata. Il gruppo di lavoro che ha prodotto questo articolo è stato direttamente implicato in questo allargamento di conoscenze, ed è dunque particolarmente indicato per illustrarle.

Le infezioni respiratorie acute rappresentano le malattie più comuni in età pediatrica sia nei Paesi industrializzati sia in quelli in via di sviluppo¹, e se la maggior parte di queste infezioni si limita alle alte vie aeree, soprattutto nel primo anno di vita², le infezioni delle basse vie aeree costituiscono la principale causa di morbidità, mortalità e ospedalizzazione nell'infanzia in tutto il mondo³.

Una percentuale variabile tra il 50% e il 90% di queste infezioni è causata da virus, specialmente nei bambini di età inferiore a 5 anni⁴.

Il virus respiratorio sinciziale (VRS) è il microrganismo virale più frequentemente identificato⁵, ma anche influenzavirus A-B, parainfluenzavirus 1-2-3, adenovirus e rhinovirus costituiscono altre importanti cause di infezioni delle basse vie aeree; tuttavia il loro ruolo e quello di altri agenti virali non sono ancora perfettamente definiti nel determinare questo tipo di infezioni.

L'etiologia delle infezioni respiratorie rimane spesso indeterminata (20-80%)⁵⁻⁷, suggerendo che altri agenti patogeni respiratori esistano da tempo, tenuto conto, però, che l'assenza di una diagnosi e i variabili tassi di incidenza riportati in letteratura dipendono anche da differenze metodologiche degli studi in materia.

Determinare l'etiologia di queste malattie è un problema, poiché ottenere campioni utili per l'isolamento microbiologico spesso non è facile in età

NEW RESPIRATORY PATHOGENS

(*Medico e Bambino* 2010;29:363-370)

Key words

Respiratory infections, Etiology, Human metapneumovirus, Human bocavirus, *Simkania negevensis*

Summary

Acute respiratory infections represent the most common disease during childhood in both developing and developed countries and although the majority of these infections are limited to the upper respiratory tract, lower respiratory tract infections are the main cause of morbidity, mortality and hospitalization in infancy all over the world. The etiology of respiratory infections often remains unknown, thus suggesting that unknown respiratory pathogens have existed for a long time, even though the negative findings and the variability in agent-specific incidence rates also depend on methodological differences of the published studies. Determining the etiology of these diseases is a problem in the pediatric age, because obtaining adequate samples for the microbiological detection is not often simple and many diagnostic tests are not always sensitive enough to identify the etiological agent. Recent progress in epidemiological research and in molecular biology, as the introduction of polymerase chain reaction performed on samples from the upper respiratory tract in which viruses and atypical bacteria are not commensal, has enabled the quick recognition and identification of many respiratory emerging pathogens. The present review firstly introduces some of the new recent respiratory pathogens, then focuses on three individual "emerging" and "new" viral and bacterial microorganisms, such as *Simkania negevensis*, human metapneumovirus and human bocavirus.

Le informazioni contenute in questa relazione sono state in parte presentate in occasione di:

- IX Congresso della Società Italiana per le Malattie Respiratorie Infantili (SIMRI), Chieti-Montesilvano (Pescara), Italia, maggio-giugno 2005
- XV Congresso annuale della *European Respiratory Society* (ERS), Copenhagen, Danimarca, settembre 2005
- XVI Congresso annuale della *European Respiratory Society* (ERS), Monaco, Germania, settembre 2006
- Discussione di Dottorato di Ricerca del primo Autore (MD) presso il *Pediatric Research Center*, Medical School, University of Tampere and Department of Pediatrics, University Hospital of Tampere, Finlandia, agosto 2009
- XIX Congresso annuale della *European Respiratory Society* (ERS), Vienna, Austria, settembre 2009
- XIV Seminario interattivo di Pediatria, Pugnochiuso (Foggia), Italia, giugno 2010

pediatrica e i test diagnostici, quali ad esempio le colture cellulari o la ricerca antigenica virale mediante immunofluorescenza (IFA) diretta, effettuati su campioni di secrezioni respiratorie raccolti in modo non invasivo, non sono sempre sufficientemente sensibili da identificare l'agente eziologico^{5,8}.

PATOGENI EMERGENTI

I recenti progressi in sorveglianza epidemiologica e biologia molecolare, come l'introduzione della "polymerase chain reaction" (PCR), hanno permesso il rapido riconoscimento e l'identificazione di molti patogeni respiratori emergenti (le abbreviazioni sono riportate in *Tabella I*). Alcuni di questi, tra cui hMPV, HCoV-NL63 e HCoV-HKU1, sono circolati probabilmente per decenni senza che nessuno se ne accorgesse; pertanto vengono più propriamente definiti patogeni "emergenti" piuttosto che "nuovi". Altri virus, invece, tra cui SARS-HCoV, H5N1 e HBoV, sembrano avere un'origine zoonotica recente e quindi vengono considerati "nuovi" patogeni.

Una volta identificato un agente virale, è importante stabilirne il suo potenziale patogenetico. A questo scopo, in passato, i postulati di Koch sono serviti a stabilire il nesso causale tra agente patogeno e malattia ma, col tempo, sono stati modificati per limarne la rigidità dovuta soprattutto alla necessità di ottenere una crescita colturale in vitro, non sempre possibile con i nuovi virus identificati⁹.

Attualmente i postulati di Koch modificati permettono di stabilire una relazione causale tra agente e malattia se:

- il microrganismo è sempre presente nei pazienti con malattia con una prevalenza significativamente maggiore rispetto ai soggetti di controllo;
- la malattia può essere riprodotta in un opportuno modello animale da cui poi isolare l'agente;
- può essere dimostrata una specifica risposta immunitaria dell'ospite verso quel determinato microrganismo.

ELENCO DI NUOVI RECENTI PATOGENI RESPIRATORI

Anno di identificazione	Patogeno (abbreviazioni)	Malattia
1993	<i>Simkania negevensis</i>	Infezioni basse vie aeree
1993	Sin nombre virus	Sindrome polmonare da Hantavirus
1994	Hendra virus	Polmonite/encefalite
1999	Nipah virus	Polmonite/encefalite
2001	Metapneumovirus (hMPV)	Infezioni alte e basse vie aeree
2003	Severe acute respiratory syndrome-Coronavirus (SARS-HCoV)	Polmonite
2004	Coronavirus-Netherlands umano (HCoV-NL63)	Infezioni alte e basse vie aeree
2004	Virus dell'influenza aviaria (avian influenza A, H5N1)	Sindrome influenzale
2005	Coronavirus-Hong Kong umano (HCoV-HKU1)	Infezioni alte e basse vie aeree
2005	Bocavirus (HBoV)	Infezioni alte e basse vie aeree; gastroenterite
2009	Virus dell'influenza suina (swine influenza A, H1N1)	Sindrome influenzale

Tabella I

Una trattazione esaustiva di alcuni tra i più nuovi e recenti patogeni respiratori, come Sin nombre virus¹⁰, Hendra virus¹¹ e Nipah virus¹², va oltre le finalità di questo articolo, per cui si rimanda il lettore interessato alle voci bibliografiche specifiche.

CORONAVIRUS

Vorremmo, invece, soffermarci sui coronavirus, identificati per la prima volta 40 anni fa¹³ e passati alla ribalta delle cronache nel 2003, in quanto responsabili della grave epidemia di *Severe Acute Respiratory Syndrome*, la cosiddetta SARS¹⁴. Tale epidemia, bloccata da un efficiente sistema globale di salute pubblica coordinato dalla *World Health Organization* (WHO), ha rinnovato l'attenzione sui coronavirus, virus che si localizzano prevalentemente a livello gastrointestinale e respiratorio, in particolare nelle prime vie aeree, tanto da essere una delle prime cause del raffreddore comune, assieme al rhinovirus¹⁵, ma possono anche causare patologie delle basse vie respiratorie, come ad esempio la bronchiolite o l'alveolite, generalmente lievi¹⁶.

Tra i coronavirus di più recente identificazione, responsabili di infezioni alle basse vie aeree, si annoverano HCoV-NL63, scoperto in Olanda nel 2004¹⁷, e HCoV-HKU1, scoperto nel 2005 a Hong-Kong¹⁸.

VIRUS INFLUENZALI

Agli inizi del 2004 è stato scoperto un nuovo ceppo virale influenzale, l'H5N1, responsabile di un'epidemia mortale in alcuni allevamenti asiatici di pollame. A metà dello stesso anno è stata confermata la possibilità di contagio animale-uomo, responsabile di una malattia altamente letale, forse caratterizzata da contagio interumano¹⁹, l'isolamento della quale ha richiesto numerosi sforzi e inevitabili gravi danni economici. Questa sindrome influenzale, ribattezzata influenza aviaria, spiegabile con l'ipotesi di una mutazione virale che avrebbe aumentato la trasmissibilità e la letalità del virus influenzale, è stata una zoonosi poco propensa a colpire l'essere umano in età pediatrica manifestandosi, in tal caso, con febbre, tosse, tachipnea e, raramente, con necessità di ventilazione meccanica²⁰.

H1N1

La WHO, a partire dall'aprile 2009, ha riportato che in alcuni Paesi, Messico e Stati Uniti *in primis*, si sono verificati casi di infezione umana da parte di un nuovo virus influenzale di tipo A, sottotipo H1N1, noto come "virus dell'influenza suina", originatosi da una triplice ricombinazione dei virus influenzali umano, aviario e suino²¹.

Il range di età dei pazienti con infezione da H1N1 è molto vario, da 3 mesi a 81 anni²²; le manifestazioni cliniche sono quelle della sindrome influenzale stagionale, con febbre, tosse, faringodinia, vomito e diarrea, e le complicanze (soprattutto polmoniti) possono colpire non solo coloro che soffrono di malattie croniche e le donne in gravidanza, ma anche soggetti altrimenti sani^{23,24}. Questo virus sembra sia sensibile agli inibitori delle neuroaminidasi (oseltamivir e zanamivir) ma non ad altri antivirali, quali la rimantadina e l'amantadina. A metà giugno 2009, il Comitato di emergenza della WHO, constatando che i criteri previsti dalla definizione di pandemia erano soddisfatti, ha deciso di alzare il livello di allerta pandemica dalla fase 5 alla fase 6, che corrisponde a un aumento della diffusione geografica del virus, ma non a un aumento della sua gravità. Pertanto la definizione di caso è attualmente basata sul solo criterio clinico, quindi il sospetto di infezione da H1N1 deve essere preso in considerazione anche in assenza di viaggi all'estero nei sette giorni precedenti²⁵.

Data la natura rapidamente evolutiva dell'epidemia, le raccomandazioni dei "Centri americani per il controllo e la prevenzione delle malattie infettive" (CDC) saranno in continuo aggiornamento: è pertanto consigliabile un costante monitoraggio del Centro per l'influenza H1N1 (*NEJM.org*) e del sito web dei CDC (*www.cdc.gov/h1n1flu/*) per venire subito a conoscenza di eventuali modifiche nelle linee guida sulla diagnosi, terapia e prevenzione di tale patologia infettiva²².

Di seguito ci soffermeremo su tre nuovi patogeni che abbiamo avuto modo di studiare personalmente, responsabili di infezioni respiratorie infantili:

metapneumovirus (hMPV), bocavirus (HBoV) e *Simkania nevegensis*. Per inciso, questi stessi patogeni vengono spesso riscontrati nel wheezing pediatrico²⁶.

METAPNEUMOVIRUS (hMPV)

L'hMPV è un esempio di agente infettivo che esiste da lungo tempo, ma che è stato riconosciuto solo di recente. Identificato inizialmente nel 2001, in Olanda, in bambini con infezioni respiratorie²⁷, l'hMPV è stato successivamente segnalato anche nel resto del mondo.

Il virus può essere identificato attraverso metodi colturali, PCR e sierologia, e la sua scoperta è stata ritardata probabilmente perché si replica poco su linee cellulari²⁷. L'infezione da hMPV viene contratta tipicamente durante l'infanzia, con un'incidenza di sieropositività che aumenta con il crescere dell'età²⁷. Lavori retrospettivi, effettuati utilizzando sieri archiviati, hanno infatti permesso di stabilire che anticorpi specifici contro questo virus fossero presenti già nel 1958 nel 100% dei bambini di età superiore a 8 anni²⁸.

Dal punto di vista tassonomico l'hMPV è stato classificato come il primo virus umano del genere *Metapneumovirus*, sottofamiglia delle *Pneumovirinae*. Esistono 2 genotipi di hMPV (sierotipo A e B), e l'eterogeneità del genoma virale può essere responsabile dell'immunità incompleta e delle ripetute infezioni. L'hMPV è frequentemente paragonato al VRS in quanto ne condivide molte proprietà biologiche, inclusi l'ospite naturale, la stagionalità (picco tra dicembre e febbraio nelle regioni a clima temperato)²⁸ e il quadro clinico e laboratoristico, che sono sostanzialmente uguali²⁹. I due virus sono, inoltre, indistinguibili anche in microscopia elettronica (*Figura 1*), poiché entrambi inducono la formazione di sincizi nelle colture cellulari. La coincidenza nella stagionalità e la condivisione della popolazione suscettibile possono esitare in co-infezioni a carico di hMPV e altri virus respiratori. Il ruolo giocato dall'hMPV in qualità di copatogeno, così come la possibilità che

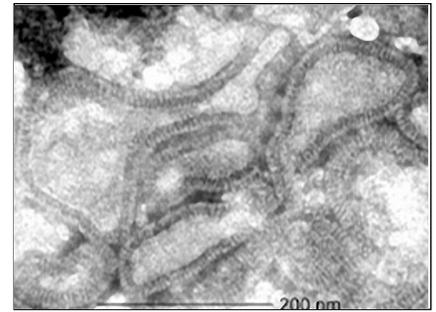


Figura 1. Particelle di hMPV in microscopia elettronica (da voce bibliografica 27).

una duplice infezione virale da hMPV e VRS possa determinare una patologia clinicamente più severa rispetto a quella causata dal singolo agente virale, sono eventualità che rimangono ancora da chiarire con certezza³⁰. Negli studi basati su PCR, condotti considerando bambini affetti da infezioni alle basse vie aeree, la percentuale di infezioni miste da hMPV è risultata variabile dal 6,4%³¹ al 54%³².

Complessivamente l'hMPV è responsabile del 5-7% delle infezioni respiratorie in bambini ospedalizzati; tuttavia anche i pazienti immunocompromessi e gli anziani sono soggetti a rischio per questa infezione. Diversi studi hanno confermato che i bambini di età inferiore a 5 anni sono i più suscettibili all'infezione da hMPV e quelli al di sotto dei 2 anni sono i più a rischio di infezioni severe²⁹, mentre solo pochi lavori sulla sieroprevalenza hanno indicato come virtualmente tutti i bambini di età compresa tra 5 e 10 anni siano già stati infettati dall'hMPV^{27,33,34}.

L'infezione da hMPV può manifestarsi clinicamente in modo molto variabile, da una lieve infezione a carico delle alte vie aeree, passando attraverso una sintomatologia simil-influenzale con febbre elevata, mialgia e vomito, fino a infezioni severe quali bronchiolite o polmonite. Peraltro tali manifestazioni sono sostanzialmente indistinguibili da quelle sostenute da altri virus respiratori, con cui facilmente si confondono nella pratica quotidiana. La maggior parte delle infezioni decorre in maniera subclinica e l'infezione acquisita non protegge dalla reinfezione, anche se è probabile che l'infezione acquisita induca una parziale protezione nei con-

fronti di malattie più severe, poiché queste ultime colpiscono esclusivamente bambini nel primo anno di vita con infezione primaria^{35,36}. In soggetti asintomatici la positività dell'hMPV alla PCR è molto rara.

Attualmente non è chiara l'associazione tra hMPV e infezioni batteriche: la polmonite batterica che complica l'infezione da hMPV non è stata riportata frequentemente e il numero dei pazienti esaminati finora è ancora troppo basso. Sembra comunque che hMPV causi più frequentemente polmonite del VRS, che più spesso esita invece in bronchiolite³⁷.

Nel periodo compreso tra ottobre 2001 e dicembre 2002 abbiamo condotto uno studio epidemiologico presso la Clinica Pediatrica dell'Università di Udine per valutare l'impatto dell'hMPV nelle polmoniti acquisite in comunità (CAP)³⁸. Su 101 bambini arruolati (età media 4,7 anni), un'evidenza sierologica di infezione acuta da hMPV è stata identificata in 5 casi (4 maschi) mediante metodica immunoenzimatica (EIA) su sieri appaiati, in un periodo ristretto dell'anno (novembre-marzo). In 2 pazienti si trattava dell'unico microrganismo identificato, mentre in altri 3 si trattava di una infezione mista (ma non con VRS). Uno solo dei 5 pazienti era stato ricoverato; la radiografia del torace dimostrava un addensamento parenchimale in 3 bambini e i valori degli indici di flogosi erano molto variabili. La sieroprevalenza nei confronti di hMPV è stata vista aumentare con l'età, raggiungendo il 100% di sieropositività intorno ai 10 anni di vita³⁹.

BOCAVIRUS (HBoV)

L'HBoV è stato scoperto nel 2005 mediante la tecnica dello "screening molecolare virale", procedura basata sul trattamento dei campioni biologici mediante DNasi, amplificazione e clonazione random, seguita da una sequenza a larga scala e analisi bioinformatica⁴⁰. L'HBoV è stato riscontrato su campioni biologici nasofaringei, ematici e fecali, facendo trapelare la possibilità che possa indurre una patologia non solo respiratoria ma anche intestinale e sistemica.

A oggi gli unici metodi diagnostici validati per HBoV sono la PCR di tipo quantitativo (che ha permesso di capire come un'alta carica virale nelle vie respiratorie sia associata all'infezione acuta, mentre una bassa carica sia più

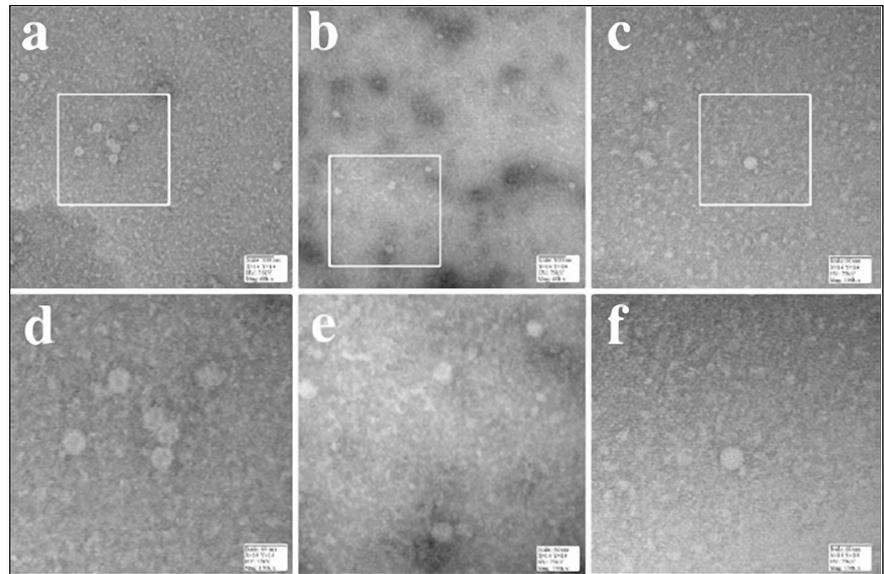


Figura 2. Immagini di microscopia elettronica del bocavirus in tre differenti campioni di aspirato nasofaringeo risultati positivi per HBoV alla PCR (a-d, b-e, c-f), dopo colorazione con uranyl-acetato al 4%, osservati a 60.000 (a-b), 100.000 (c) e 150.000 ingrandimenti (d-e-f). I riquadri bianchi nelle immagini a, b, e c sono evidenziati nelle immagini d, e ed f, rispettivamente. Le particelle evocative di capsidi di parvovirus sono esagonali e manifestano una maggiore colorazione al centro. La loro grandezza media (deviazione standard), calcolata misurando 45 particelle da apice a apice a 150.000 ingrandimenti, è pari a 25 (4) nm (da voce bibliografica 46).

legata a uno "stato di portatore") e la ricerca anticorpale specifica su sieri appaiati⁴¹⁻⁴³. La dipendenza della PCR da modalità non ancora standardizzate di campionamento a livello respiratorio e il fatto che non permetta di distinguere con certezza tra infezione acuta e semplice persistenza virale asintomatica rendono difficile trarre conclusioni sulla reale patogenicità dell'HBoV⁴⁴.

Inoltre il virus non è stato ancora replicato in vitro; al momento non sono disponibili modelli animali, ci sono solo esperienze preliminari sulla sua sieropidemiologia⁴² e pochi sono gli studi che hanno utilizzato casi controllo⁴⁵, per cui i postulati di Koch modificati non sono ancora stati pienamente rispettati per l'HBoV⁹. Rare rimangono le segnalazioni di visione diretta dei virioni di HBoV in microscopia elettronica (Figura 2)⁴⁶.

L'HBoV è un virus classificato nella famiglia delle *Parvoviridae*, sottofamiglia *Parvovirinae*, genere *Bocavirus*, quindi è un parvovirus legato, seppure in modo lontano, al Parvovirus B19, agente eziologico della quinta malattia e di altre patologie nell'uomo⁴⁴. Utilizzando la metodica della PCR su cam-

pioni biologici di origine respiratoria, è stata dimostrata la presenza dell'HBoV nel 19% dei casi di bambini con wheezing⁴¹ e in una percentuale variabile dall'1,5% all'11,3% di bambini con altre infezioni respiratorie in Nord America, Europa, Asia e Australia, suggerendo una diffusione mondiale del virus, senza una precisa stagionalità⁴⁴. La variabilità dei dati su prevalenza e stagionalità dell'HBoV può dipendere da differenze degli studi di popolazione, dalle tecniche di campionamento (la raccolta di campioni biologici spesso è stagionale e guidata da altre epidemie virali) nonché dalla diversa sensibilità delle metodiche utilizzate (vedi critiche a PCR)⁴⁴.

Negli studi su HBoV, cercato nelle secrezioni respiratorie mediante PCR, la percentuale di infezioni miste variava dal 34,6% al 76%, e l'HBoV era coinvolto spesso in co-infezioni virali con il VRS; è anche difficile, per questo motivo, trarre conclusioni certe sulla patogenicità del virus nell'uomo⁴⁴. La più alta percentuale di infezioni miste (83%) è stata identificata in casi di polmoniti HBoV-positivo studiate in Thailandia⁴⁷.

Fino a ora, pochi lavori, basati sulle metodiche IFA o EIA, hanno studiato la siero-epidemiologia dell'HBov, confermando la sua capacità di stimolare il sistema immune mediante i linfociti B⁴⁸⁻⁵⁰. In linea di massima, in età pediatrica, i tassi di sieropositività per HBov sono risultati simili a quelli dell'hMPV²⁷, con percentuali progressivamente crescenti all'aumentare dell'età. Questi dati, assieme a quelli di prevalenza sul virus, suggeriscono che l'HBov è un virus endemico, con un alto tasso di attacco tra i bambini, probabilmente seguito da vari gradi di immunità, rendendo conto del fatto che quasi il 100% della popolazione viene infettata durante l'infanzia⁴⁴.

L'HBov è identificato più frequentemente in pazienti con sintomi di tipo respiratorio rispetto a soggetti asintomatici, per cui lo si può ritrovare in casi di polmonite, bronchiolite e asma acuto^{41,43,45,47,51}, ma il suo DNA è stato ritrovato anche nel sangue⁴¹ così come in campioni di feci prelevati da bambini con gastroenterite⁵².

Come già detto in precedenza, l'attuale impossibilità a rispettare tutti i postulati di Koch non permette di considerare l'HBov agente eziologico di malattia a tutto tondo; possiamo però, con le recenti acquisizioni in materia, ragionevolmente sostenere che l'HBov non sia solo un altro nuovo virus respiratorio ma anche e soprattutto un parvovirus umano ancora poco conosciuto e studiato.

I dati del nostro gruppo di studio sulle CAP in età pediatrica sono stati integrati nel 2008 con la ricerca sierologica delle IgG e IgM specifiche per HBov, eseguita su sieri appaiati, mediante una nuova metodica EIA, permettendoci di implementare dal 67%⁵³ al 74% la definizione diagnostica delle polmoniti stesse⁵³. In totale, il riscontro sierologico di infezione acuta da HBov è stato ottenuto in 12 bambini con CAP (8 maschi), non esclusivamente durante il periodo invernale, confermando l'assenza di una precisa stagionalità. Abbiamo inoltre constatato che un terzo dei casi era rappresentato da coinfezioni di HBov con altri virus (incluso il VRS) e, sorprendentemente, solo 3 casi erano infezioni miste dell'HBov con altri germi, andando un po' contro il comune pensiero che i virus respiratori pongano la base per una successiva infezione pneumococcica o da altri batteri⁵⁴. Sette dei 12 bambini sono stati ricoverati; la radiografia del torace ha dimostrato un addensamento

parenchimale in 9 dei 12 pazienti e, anche nel caso dell'HBov, i valori degli indici di flogosi sono risultati molto variabili. Infine, la sieroprevalenza è risultata simile a quella già riscontrata per l'hMPV^{27,33,34} e per l'HBov⁴⁸⁻⁵⁰, anche se i nostri risultati ne rappresentano solo una stima, poiché i pazienti non sono stati reclutati in modo randomizzato secondo uno studio di popolazione.

SIMKANIA NEGEVENSIS

Un batterio atipico recentemente identificato è *Simkania negevensis*, precedentemente chiamato "Simkania Z": si tratta di un batterio intracellulare, penicillino-resistente.

Identificato per la prima volta in Israele nel 1993, *Simkania negevensis* appartiene alla famiglia delle *Simkaniaceae* nell'ordine delle *Chlamydiales*; divide molte caratteristiche con il genere *Chlamydia*⁵⁵, ma presenta anche

delle diversità a livello di ciclo di crescita (Figura 3)^{56,57}, identità genomica (pari all'80-87%)⁵⁶ e sensibilità agli antibiotici (come le clamidie è sensibile a macrolidi e tetracicline, moderatamente sensibile ai fluorochinoloni, ma totalmente resistente alle penicilline)^{56,58}.

Simkania negevensis può essere identificata in campioni biologici attraverso metodi culturali, PCR (*Polymerase Chain Reaction*) e test immunoenzimatici.

Attualmente il dosaggio sierico delle IgG specifiche attraverso il test ELISA è il metodo di screening più affidabile per il riscontro di infezione progressiva. La diagnosi di infezione acuta si ottiene, invece, cercando il germe in campioni clinici attraverso coltura o PCR, oppure mediante la sierologia (variazione significativa del titolo anticorpale su sieri appaiati o riscontro di IgA o entrambi) eseguita tramite ELI-

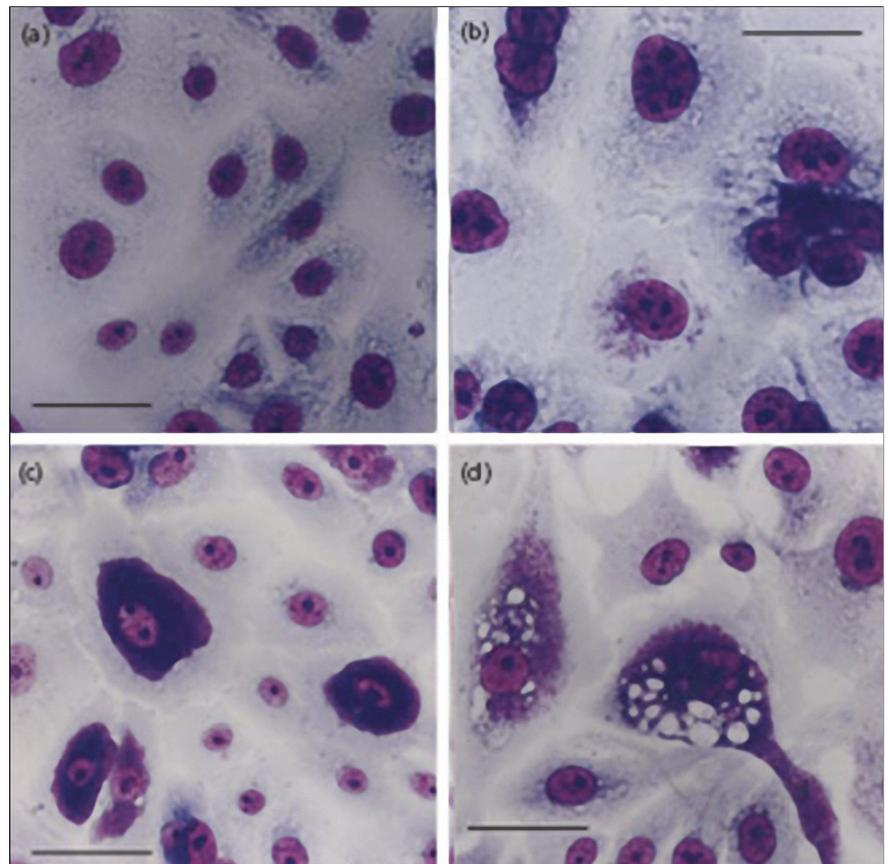


Figura 3. Monostrato di cellule Vero fissate e colorate con May-Grundwal/Giemsa in tempi diversi dopo l'infezione da *Simkania negevensis*: (a) cellula non infetta 1, (b) giorno 2, (c) giorno 5, (d) giorno 13; barra 50 mm (da voce bibliografica 57).

SA, metodica quest'ultima non validata in età pediatrica⁵⁶.

Simkania è associata a infezioni delle basse vie aeree in età pediatrica⁵⁹. È stata identificata per la prima volta in uno studio israeliano in bambini con bronchiolite (IgA pari a 15% vs 1,3% in soggetti sani, $p > 0,001$)⁵⁶. Successivamente è stata isolata anche nel 63,6% di lattanti canadesi (età < 6 mesi), ricoverati per infezioni polmonari: nel 9% dei casi era l'unico microrganismo, mentre nell'85,7% dei casi si trattava di una coinfezione (in prevalenza con VRS, di cui non peggiorava la prognosi).

L'alto numero di coinfezioni suggerisce la possibilità che *Simkania* non sia un reale patogeno in corso di infezioni delle basse vie aeree, ma piuttosto funga da opportunisto⁶⁰. Inoltre, a differenza di *Chlamydia* e *Mycoplasma*, *Simkania* è spesso presente in infezioni respiratorie polimicrobiche⁵⁶.

Un recente studio finlandese di tipo caso-controllo, condotto per valutare la possibile associazione tra infezione da *Simkania* e sviluppo di asma in età pediatrica, ha dimostrato che la positività degli anticorpi specifici per *Simkania negevensis* è comune anche tra i bambini di età compresa tra 1 e 6 anni, ma non sembra esserci nessuna associazione con lo sviluppo di asma⁶¹.

Gli studi su adulti si basano sulla sierologia che, come detto, riflette la presenza di infezione acuta, ma in modo più accurato rispetto a coltura o PCR poiché, soprattutto nell'adulto, molti microrganismi potenzialmente patogeni possono colonizzare le vie respiratorie senza necessariamente essere coinvolti in un processo infettivo⁵⁶.

Oltre a causare infezioni respiratorie, *Simkania* è stata riscontrata anche nel tessuto cardio-vascolare ma, a questo livello, il suo ruolo deve essere ancora chiarito⁶².

Da un punto di vista sierologico la sieropositività per questo microrganismo si ritrova in una percentuale variabile dal 39% all'80% in età adulta. L'infezione primaria viene contratta molto precocemente: la sieroprevalenza si aggira intorno al 30% in bambini con età < 2 anni, rispetto al 2% tra i pari età nei confronti di *Chlamydia*⁵⁶.

I risultati del nostro lavoro su 101 bambini con CAP⁵⁸, integrati nel 2005 con la ricerca anticorpale di *Simkania* mediante micro-IFA su sieri appaiati, suggeriscono che questo batterio possa essere considerato una causa reale, seppur rara, di polmonite in età pediatrica⁶³, nonostante esistano evidenze contrarie⁶⁴. Dei 5 pazienti (3 maschi) con evidenza sierologica di infezione acuta da *Simkania negevensis*, solo uno è stato ricoverato, uno ha presentato un addensamento lobare alla radiografia del torace, tre casi erano infezioni miste, almeno un indice di flogosi era elevato e non è stata riscontrata una precisa stagionalità.

La prevalenza del riscontro di anticorpi specifici era pari al 20-30%, senza incrementi all'aumentare dell'età e non è stata riscontrata una cross-reattività tra gli anticorpi di *Simkania negevensis* e *Chlamydia pneumoniae*.

Si ricorda inoltre che questi risultati devono essere considerati con cautela, in quanto lo studio non è di tipo caso-controllo e rappresenta solo una stima della sieroprevalenza di *Simkania*.

CONCLUSIONI

Ipersemplicando, gli effetti pratici delle informazioni recenti sui patogeni emergenti si riducono a poca cosa: da una parte l'individuazione di un batterio atipico, vicino a *Chlamydia* per caratteristica di crescita e di espressione patologica, suscettibile di terapia antibiotica (ma a prevalente evoluzione in guarigione spontanea)⁶⁵, e dall'altra una serie di agenti virali, alcuni "caduchi" come il responsabile della SARS, e uno solo, H1N1, curabile. Per quest'ultimo, la diagnosi di laboratorio è relativamente facile, e così pure l'identificazione clinica, quanto meno in epidemia.

La ricerca sierologica dell'infezione da *Simkania* su sieri appaiati è raramente utile nella pratica clinica quotidiana, anche perché occorrono almeno 4 settimane per una sieroconversione. Pensiamo, pertanto, che la sierologia per *Simkania* non debba oggi rientrare nella routine diagnostica; in futuro potrebbe rendersi utile l'applicazione della PCR su campioni respiratori, ad esempio come test per accertare (o escludere) contemporaneamente la presenza di *Simkania*, *Mycoplasma* e *Chlamydia*.

D'altro canto, i test virologici raramente sono utili nella pratica quotidiana, poiché il riscontro di un'infezione

MESSAGGI CHIAVE

❑ Le infezioni respiratorie acute sono le malattie più comuni in età pediatrica nei Paesi industrializzati e in quelli in via di sviluppo e quelle che si localizzano alle basse vie aeree costituiscono ancora la principale causa di morbilità, mortalità e ospedalizzazione nell'infanzia in tutto il mondo.

❑ Spesso la diagnosi specifica di tali infezioni rimane ignota, anche perché determinarne la causa eziologica è un problema in pediatria. Infatti ottenere campioni utili per l'isolamento microbiologico non è facile e i test diagnostici effettuati su campioni di secrezioni respiratorie raccolti in modo non invasivo non sempre sono sufficientemente sensibili da identificare l'agente eziologico.

❑ Il metapneumovirus umano è un virus che condivide molte proprietà biologiche con il virus respiratorio sinciziale ed è responsabile di malattie respiratorie dal quadro clinico molto variabile. L'infezione viene contratta durante l'infanzia, con una sieropositività che aumenta all'aumentare dell'età, raggiungendo il 100% in età scolare.

❑ Il bocavirus umano, di cui per vari motivi non è ancora stata definitivamente accertata la reale patogenicità, sembra implicato in infezioni respiratorie, gastroenteriche e sistemiche. Il virus è ubiquitario, colpisce senza una precisa stagionalità, è frequentemente coinvolto in infezioni miste e, come per il metapneumovirus, la sua sieropositività raggiunge il 100% in età scolare.

❑ *Simkania negevensis* è un batterio intracellulare, simile ma non uguale alle clamidie; è associata alle infezioni delle basse vie aeree in età pediatrica (bronchioliti, polmoniti); spesso è coinvolta in infezioni miste, risponde ai macrolidi e, a differenza di metapneumovirus e bocavirus, la sua sieropositività si attesta intorno al 20-30% nella fascia pediatrica, con incrementi all'aumentare dell'età.

virale non esclude automaticamente la co-infezione batterica. L'hMPV e l'H-BoV sembrano essere abbastanza comuni, ma il loro ruolo appare simile a

quello di altri virus: di rado realmente importante se l'infezione virale è singola, più significativa se implicata in una co-infezione, avendo i virus la capacità di predisporre alla sovrinfezione batterica, inclusa quella più temibile da pneumococco⁵⁴.

Il continuo sviluppo in materia di tecnologia molecolare, la prosecuzione degli studi microbiologici svolti in tutto il mondo sul modello di quelli presentati nelle pagine precedenti, così come la possibilità di disporre di banche dati su campioni biologici di pazienti con patologie delle vie aeree, corredate da informazioni cliniche esaustive, dovrebbero essere sempre incentivati e potenziati. Tale approccio potrebbe non solo ridurre i limiti conoscitivi sui patogeni respiratori finora scoperti, ma anche fornire le risorse per scoprirne sempre di nuovi, come i poliomavirus WU e KI^{66,67}, recentemente identificati in pazienti con infezioni respiratorie acute e proposti quali agenti aventi un ruolo eziologico ben preciso nelle malattie respiratorie. La presenza di microrganismi potenzialmente patogeni per l'uomo e precedentemente non identificati rimane, quindi, una sfida molto importante per la medicina degli anni a venire.

Indirizzo per corrispondenza:

Massimiliano Don
e-mail: max.don@libero.it

Bibliografia

- Zar HJ, Mulholland K. Global burden of Pediatric Respiratory Illness and the implications for management and prevention. *Ped Pulmonol* 2003;36:457-61.
- Monto AS. Epidemiology of viral respiratory infections. *Am J Med* 2002;112(suppl 6A):4S-12S.
- Williams BG, Gouws E, Baschi-Pinto C, Bryce J, Dye C. Estimates of world-wide distribution of child deaths from acute respiratory infections. *Lancet Infect Dis* 2002;2:25-32.
- Glezen WP, Loda FA, Clyde WA, et al. Epidemiologic patterns of acute lower respiratory disease of children in a pediatric group practice. *J Pediatr* 1971;78:397-406.
- Jennings LC, Anderson TP, Werno AM, Beynon KA, Murdoch DR. Viral etiology of acute respiratory tract infections in children presenting to hospital: role of polymerase chain reaction and demonstration of multiple infections. *Pediatr Infect Dis J* 2004;23:1003-7.
- British Thoracic Society of Standards of Care Committee BTS Guidelines for the management of community acquired pneumonia in childhood. *Thorax* 2002;57:1-24.
- Louie JK, Hacker JK, Gonzales R, et al. Characterization of viral agents causing acute respiratory infection in a San Francisco University Medical Center Clinic during the influenza season. *Clin Infect Dis* 2005;41:822-8.
- Arnold JC, Singh KK, Spector SA, Sawyer MH. Human bocavirus: prevalence and clinical spectrum at a children's hospital. *Clin Infect Dis* 2006;43:283-8.
- Fredericks DN, Relman DA. Sequence-based identification of microbial pathogens: a reconsideration of Koch's postulates. *Clin Microbiol Rev* 1996;9:18-33.
- Duchin JS, Koster FT, Peters CJ, et al. Hantavirus pulmonary syndrome: a clinical description of 17 patients with a newly recognized disease. The Hantavirus Study Group. *N Engl J Med* 1994;330:949-55.
- Selvey LA, Wells RM, McCormack JG, et al. Infection of humans and horses by a newly described morbillivirus. *Med J Aust* 1995;162:642-5.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Update: outbreak of Nipah virus-Malaysia and Singapore, 1999. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1999;48:335-7.
- Tyrrel DA, Bynoe ML. Cultivation of a novel type of common-cold virus in organ cultures. *BMJ* 1965;5448:1467-70.
- Tsang KW, Ho PL, Ooi GC, et al. A cluster of cases of severe acute respiratory syndrome in Hong Kong. *N Engl J Med* 2003;348:1977-85.
- El-Sahly HM, Atmar RL, Glezen WP, Greenberg SB. Spectrum of clinical illness in hospitalized patients with "Common Cold" virus infection. *Clin Infect Dis* 2000;31:96-100.
- Vabret A, Mourez T, Goarin S, Petitjean J, Freymuth F. An outbreak of coronavirus OC43 respiratory infection in Normandy, France. *Clin Infect Dis* 2003;36:985-9.
- van der Hoek L, Pyrc K, Jebbink MF, et al. Identification of a new human coronavirus. *Nat Med* 2004;10:368-73.
- Woo PC, Lau SK, Chu CM, et al. Characterization and complete genome sequence of a novel coronavirus, coronavirus HKU1, from patients with pneumonia. *J Virol* 2005;79:884-95.
- Ungchusak K, Auewarakul P, Dowell SF, et al. Probable person-to-person transmission of avian influenza A (H5N1). *N Engl J Med* 2005;352:333-40.
- Grose C, Chokeyhaibulkit K. Avian influenza virus infection of children in Vietnam and Thailand. *Pediatr Infect Dis J* 2004;23:793-4.
- Baden LR, Drazen JM, Kritek PA, Curfman GD, Morrissey S, Campion EW. H1N1 influenza A disease-information for health professionals. *N Engl J Med* 2009;360:2666-7.
- Novel Swine-Origin Influenza A (H1N1) Virus Investigation Team. Emergence of a novel swine-origin influenza A (H1N1) virus in humans. *N Engl J Med* 2009;360:2605-15.
- Perez-Padilla R, de la Rosa-Zamboni D, Ponce de Leon S, et al. Pneumonia and respiratory failure from swine-origin influenza A (H1N1) in Mexico. *N Engl J Med* 2009;361:680-9.
- Chowell G, Bertozzi SM, Colchero MA, et al. Severe respiratory disease concurrent with the circulation of H1N1 influenza. *N Engl J Med* 2009;361:674-9.
- www.ministerosalute.it.
- Don M, Canciani M. Nuovi patogeni delle infezioni respiratorie infantili e loro ruolo nella malattia asmatica. *Asma & Allergia* 2009;25:5-15.
- van den Hoogen BG, de Jong JC, Groen J, et al. A newly discovered human pneumovirus isolated from young children with respiratory tract disease. *Nat Med* 2001;7:719-24.
- Crowe JE. Human metapneumovirus as a major cause of human respiratory tract disease. *Pediatr Infect Dis J* 2004;23:S215-21.
- van den Hoogen BG, Osterhaus DM, Fouchier RA. Clinical impact and diagnosis of human metapneumovirus infection. *Pediatr Infect Dis J* 2004;23(1 Suppl):S25-32.
- Principi N, Bosis S, Esposito S. Human metapneumovirus in paediatric patients. *Clin Microbiol Infect* 2006;12:301-8.
- Boivin G, De Serres G, Côté S, et al. Human metapneumovirus infections in hospitalized children. *Emerg Infect Dis* 2003;9:634-40.
- Maggi F, Pifferi M, Vatteroni M, et al. Human metapneumovirus associated with respiratory tract infections in a 3-year study of nasal swabs from infants in Italy. *J Clin Microbiol* 2003;41:2987-91.
- Ebihara T, Endo R, Kikuta H, et al. Seroprevalence of human metapneumovirus in Japan. *J Med Virol* 2003;70:281-3.
- Leung J, Esper F, Weibel C, Kahn JS. Seroprevalence of human metapneumovirus (hMPV) on the basis of a novel enzyme-linked immunosorbent assay utilizing hMPV fusion protein expressed in recombinant vesicular stomatitis virus. *J Clin Microbiol* 2005;43:1213-9.
- Alto WA. Human metapneumovirus: a newly described respiratory tract pathogen. *J Am Board Fam Pract* 2004;17:466-9.
- Williams JV, Harris PA, Tollefson SJ, et al. Human metapneumovirus and lower respiratory tract disease in otherwise healthy infants and children. *N Engl J Med* 2004;350:443-50.
- Døllner H, Risnes K, Radtke A, Nordbø SA. Outbreak of human metapneumovirus infection in norwegian children. *Pediatr Infect Dis J* 2004;23:436-40.
- Don M, Fasoli L, Paldanius M, et al. Aetiology of community-acquired pneumonia: serological results of a paediatric survey. *Scand J Infect Dis* 2005;37:806-12.
- Don M, Korppi M, Valent F, Vainionpää R, Canciani M. Human metapneumovirus pneumonia in children: results of an Italian study and mini-review. *Scand J Infect Dis* 2008;40:821-6.
- Allander T, Tammi MT, Eriksson M, Bjerkner A, Tiveljung-Lindell A, Andersson B. Cloning of a human parvovirus by molecular screening of respiratory tract samples. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102:12891-6.
- Allander T, Jartti T, Gupta S, et al. Human bocavirus and acute wheezing in children. *Clin Infect Dis* 2007;44:904-10.
- Kantola K, Hedman L, Allander T, et al. Serodiagnosis of human bocavirus infection. *Clin Infect Dis* 2008;46:540-6.
- Söderlund-Venermo M, Lahtinen A, Jartti T, et al. Clinical Assessment and Improved Diagnosis of Bocavirus-induced Wheezing in Children, Finland. *Emerg Infect Dis* 2009;15:1423-30.
- Allander T. Human bocavirus. *J Clin Virol* 2008;41:29-33.

45. Kesebir D, Vazquez M, Weibel C, et al. Human bocavirus infection in young children in the United States: molecular epidemiological profile and clinical characteristics of a newly emerging respiratory virus. *J Infect Dis* 2006; 194:1276-82.
46. Brieu N, Gay B, Segondy M, Foulongne V. Electron microscopy observation of human bocavirus (HBoV) in nasopharyngeal samples from HBoV-infected children. *J Clin Microbiol* 2007;45:3419-20.
47. Fry AM, Lu X, Chittaganpitch M, et al. Human bocavirus: a novel parvovirus epidemiologically associated with pneumonia requiring hospitalization in Thailand. *J Infect Dis* 2007; 195:1038-45.
48. Endo R, Ishiguro N, Kikuta H, et al. Seroprevalence of human bocavirus in Hokkaido prefecture, Japan. *J Clin Microbiol* 2007;45: 3218-23.
49. Kahn JS, Kesebir D, Cotmore SF et al. Seroprevalence of Human Bocavirus Defined Using Recombinant Virus-Like Particles. *J Infect Dis* 2008;198:41-50.
50. Lin F, Guan W, Cheng F, Yang N, Pintel D, Qiu J. ELISAs using human bocavirus VP2 virus-like particles for detection of antibodies against HBoV. *J Virol Methods* 2008;149:110-7.
51. Vallet C, Pons-Catalano C, Mandelcwaig A, et al. Human bocavirus: a cause of severe asthma exacerbation in children. *J Pediatr* 2009; 155:286-8.
52. Vicente D, Cilla G, Montes M, Pérez-Yarza EG, Pérez-Trallero E. Human bocavirus, a respiratory and enteric virus. *Emerg Infect Dis* 2007;13:636-7.
53. Don M, Sorelund-Venermo M, Valent F, et al. Serologically verified human bocavirus pneumonia in children. *Pediatr Pulmonol* 2010;45:120-6.
54. Korppi M. Mixed viral-bacterial aetiology of community-acquired pneumonia in children. *APMIS* 2002;110:515-22.
55. Kahane S, Everett KD, Kimmel N, Friedman MG. *Simkania negevensis* strain ZT: growth, antigenic and genome characteristics. *Int J Syst Bacteriol* 1999;49:815-20.
56. Friedman MG, Dvoskin B, Kahane S. Infections with the *Chlamydia*-like microorganism *Simkania negevensis*, a possible emerging pathogen. *Microb Infect* 2003;5:1013-21.
57. Kahane S, Kimmel N, Friedman MG. The growth cycle of *Simkania negevensis*. *Microbiol* 2002;148:735-42.
58. Kahane S, Friedman MG. Antibiotic sensitivity in vitro of *Simkania negevensis*. In: Saikku P (Ed). *Proceedings of the Fourth Meeting of the European Society for Chlamydia research*. Bologna: Editrice Esculapio, 2000:397.
59. Kahane S, Greenberg D, Friedman MG, Haikin H, Dagan R. High prevalence of "*Simkania Z*", a novel *Chlamydia*-like bacterium, in infants with acute bronchiolitis. *J Infect Dis* 1998;177:1425-9.
60. Greenberg D, Banerji A, Friedman MG, Chiu CH, Kahane S. High rate of *Simkania negevensis* among Canadian Inuit infants hospitalized with lower respiratory tract infections. *Scand J Infect Dis* 2003;35:506-8.
61. Korppi M, Paldanius M, Hyvärinen A, Nevalainen A. *Simkania negevensis* and newly diagnosed asthma: a case-control study in 1- to 6-year-old children. *Respirology* 2006;11: 80-3.
62. Quinn TC, Gaydos CA. In vitro infection and pathogenesis of *Chlamydia pneumoniae* in endothelial cells. *Am Heart J* 1999;138: S507-11.
63. Fasoli L, Paldanius M, Don M, et al. *Simkania negevensis* in community-acquired pneumonia in Italian children. *Scand J Infect Dis* 2008;40:269-72.
64. Kumar S, Kahlhoff SA, Gelling M, et al. Infection with *Simkania negevensis* in Brookline, New York. *Pediatr Infect Dis J* 2005;24:989-92.
65. Nascimento-Carvalho CM, Cardoso MR, Paldanius M, et al. *Simkania negevensis* infection among Brazilian children hospitalized with community-acquired pneumonia. *J Infect* 2009;58:250-3.
66. Gaynor AM, Nissen MD, Whiley DM, et al. Identification of a novel polyomavirus from patients with acute respiratory tract infections. *PLoS Pathog* 2007;3:e64.
67. Allander T, Andreasson K, Gupta S, et al. Identification of a third human polyomavirus. *J Virol* 2007;81:4130-6.

