



[LE SOCIETÀ SCIENTIFICHE]

Infezioni neonatali: una nuova interpretazione

Comprendere a fondo i meccanismi molecolari alla base della suscettibilità individuale alle infezioni neonatali è fondamentale per sviluppare protocolli di prevenzione efficaci e personalizzati.

Introduzione

INEONATI SONO COMUNEMENTE CONSIDERATI vulnerabili ai microrganismi a causa della cosiddetta immaturità immunologica neonatale, anche definita paralisi immunologica o tolleranza immunologica dell'epoca neonatale. Tale concetto, utilissimo a rendere ragione della maggiore suscettibilità neonatale alle infezioni a livello di popolazione, non spiega la variabilità inter-individuale delle risposte neonatali contro i microrganismi. Solo una piccola proporzione dei neonati esposti a un dato microrganismo sviluppa un'infezione grave, mentre la maggior parte dei neonati è colonizzata senza sviluppare infezioni clinicamente evidenti.

Gli studi epidemiologici hanno identificato fattori che contribuiscono al rischio di sviluppare un'infezione grave in epoca neonatale. Sulla base di tali fattori il rischio individuale può essere stimato e possono essere messe in atto strategie preventive.

Nonostante la loro indiscussa utilità, i protocolli di prevenzione sono solo parzialmente efficaci. Oltre alla incompleta aderenza ai protocolli, una importante ragione sta nella loro limitata capacità di predire con accuratezza la predisposizione individuale a sviluppare un'infezione grave, specialmente se l'infezione si verifica in assenza di fattori di rischio.

Ad oggi, le basi molecolari della suscettibilità individuale alle infezioni neonatali sono in larga parte sconosciute.



Alessandro Borghesi, Mauro Stronati
Neonatologia, Patologia Neonatale e Terapia Intensiva,
Fondazione IRCCS - Policlinico San Matteo, Pavia

Epidemiologia delle infezioni neonatali

IL *GLOBAL BURDEN OF DISEASE STUDY 2015* RIPORTA che le infezioni in epoca neonatale rendono ragione di almeno 600.000 decessi in epoca neonatale ogni anno nel mondo.¹

La distribuzione dei patogeni che causano infezione nei neonati, diversa da quella che si riscontra in età pediatrica e adulta, varia secondo i giorni di vita del neonato e dell'età gestazionale alla nascita. Si definiscono infezione *early-onset* ed infezione *late-onset* le infezioni che si verificano rispettivamente nelle prime 48-72 ore di vita o dopo le prime 48-72 or di vita; specificamente per lo streptococco di gruppo B (*Streptococcus agalactiae* o group B Streptococcus, GBS) si definiscono infezione *early-onset* ed infezione *late-onset* quelle che si verificano durante o dopo i primi 6 giorni di vita. Il GBS è in gran parte degli studi il patogeno più frequentemente isolato nei neonati a termine durante la prima settimana di vita, e tra le più frequenti cause di sepsi e meningite dopo la prima settimana di vita. In studi recenti si rileva un incremento della proporzione di infezioni causate da *Escherichia coli*, più spesso associate a infezione delle vie urinarie, in neonati a termine di età compresa tra 1 settimana e 3 mesi.

In neonati di peso molto basso (< 1500 g alla nascita, *very low birth weight*, VLBW) i batteri Gram-negativi sono i più frequentemente isolati nelle infezioni *early-onset*, mentre nelle *late-onset* sono più spesso isolati i batteri Gram-positivi, seguiti dai Gram-negativi e dai funghi. Le infezioni profonde da *Candida* spp. ed altri funghi sono eccezionali in neonati a termine senza comorbidità.



Sistema immunitario neonatale, virulenza del microrganismo, fattori di rischio epidemiologici

NELLE SCORSE DECADI, LO STUDIO DELLE INFEZIONI neonatali umane è stato focalizzato in modo particolare su tre ambiti: 1) le peculiarità immunologiche neonatali a livello di popolazione per spiegare la maggiore suscettibilità neonatale rispetto ad altre età della vita; 2) le basi molecolari della virulenza dei microrganismi, per spiegare il decorso più grave di alcune infezioni; 3) i fattori di rischio epidemiologici, per identificare gruppi di neonati per cui mettere in atto misure di prevenzione.

1) SISTEMA IMMUNITARIO NEONATALE

Il sistema immunitario neonatale differisce da quello di altre età della vita, poiché è necessaria una fine regolazione per bilanciare la necessità di tolleranza ad antigeni vantaggiosi come quelli alimentari e la necessità di difesa contro microrganismi patogeni. Sebbene si sia dimostrato che le cellule neonatali, in diverse condizioni sperimentali, sono in grado di mettere in atto risposte infiammatorie simili a quelle adulte, diversi studi hanno mostrato che, nel sangue cordonale e neonatale, le risposte dell'immunità innata sono Th2-polarizzanti, le risposte T cellulari sono Th2-deviate, e vi è un arricchimento di diversi tipi di cellule regolatorie. Inoltre, le risposte neonatali umorali dipendono in gran parte dal passaggio transplacentare di anticorpi (Ab) materni antimicrobici di classe IgG.

2) FATTORI DI RISCHIO EPIDEMIOLOGICI

Nelle scorse decadi studi epidemiologici hanno identificato numerosi fattori di rischio associati a infezione *early-onset* o *late-onset* nel neonato a termine e *late-preterm* (34-36 settimane di età gestazionale alla nascita) o, in ambito nosocomiale, nei neonati pretermine. È importante sottolineare che i fattori di rischio epidemiologici sono associati, non causativi di infezione, ed hanno accuratezza limitata nel predire il rischio individuale. Ad esempio, per l'infezione da GBS, il 40-45% dei casi di sepsi *early-onset* e la maggior parte delle sepsi *late-onset* si verificano in assenza di fattori di rischio noti. I fattori di rischio epidemiologici, pertanto, identificano gruppi di neonati in cui sono probabilmente presenti determinanti di suscettibilità all'infezione, ma la natura di tali determinanti rimane per il momento sconosciuta.

3) VIRULENZA E CARICA DEL MICRORGANISMO

Diversi fattori di virulenza possono spiegare il comportamento invasivo di un microrganismo. Ad esempio, nell'in-

fezione neonatale da GBS, la carica batterica, il ceppo in causa e i fattori di virulenza del ceppo infettante (es. i ceppi cosiddetti ipervirulenti CC17 identificati mediante *multilocus sequence typing*) possono spiegare il verificarsi di un'infezione invasiva in alcuni neonati. Tuttavia, le infezioni gravi non sono pienamente spiegate dalla virulenza batterica.

Un quesito ancora irrisolto è quali siano le vie di segnale non ridondanti nelle risposte innate protettive verso specifici microrganismi in epoca neonatale. Tuttavia gli studi finora condotti in condizioni sperimentali, sebbene forniscano informazioni importanti, nulla dicono sulla non ridondanza delle stesse vie di segnale nell'essere umano in condizioni naturali, né chiariscono se un deficit di tali vie di segnale possa spiegare il verificarsi di infezioni gravi.

Un ambito di ricerca largamente inesplorato nella medicina neonatale rimane dunque quello delle basi molecolari delle risposte individuali dell'ospite a specifici microrganismi.



Spettro delle infezioni neonatali

SOTTO UN PROFILO CLINICO, I NEONATI CON INFEZIONE grave possono essere distinti in due gruppi principali:

- 1) **neonati con una condizione medica nota.** Condizioni come prematurità grave, malformazioni urinarie o altre malformazioni d'organo, patologie neurologiche, necessità di procedure invasive mediche o chirurgiche, esposizione a farmaci, o condizioni che richiedono ricovero in terapia intensiva neonatale (TIN) comportando esposizione a patogeni nosocomiali, sono per se sufficienti a spiegare l'aumentata vulnerabilità ai microrganismi che colonizzano cute e mucose. In tali condizioni, singoli fattori a elevata penetranza clinica (es. malformazioni urinarie) o il concorrere di più fattori (patogenesi complessa/multifattoriale) spiegano la suscettibilità alle infezioni, ed è probabile che solo una piccola proporzione del rischio sia spiegata dalla variabilità genetica individuale;
- 2) **neonati a termine o late-preterm senza condizioni mediche identificabili.** Le infezioni gravi in tali neonati si verificano frequentemente in assenza di fattori predisponenti evidenti. I fattori di rischio epidemiologici noti, la carica microbica, la virulenza del ceppo infettante e le specificità e i livelli degli anticorpi antimicrobici specifici materni contribuiscono al rischio, ma non sono sufficienti a spiegare

Gli studi epidemiologici hanno identificato fattori che contribuiscono al rischio di sviluppare un'infezione grave in epoca neonatale, sulla base dei quali si può stimare il rischio individuale e si possono mettere in atto strategie preventive.

→ il verificarsi di infezioni gravi a livello del singolo individuo. È probabile che meccanismi molecolari di suscettibilità non ancora identificati possano spiegare le differenze inter-individuali di risposta ai microrganismi. Pertanto, dal punto di vista dell'ospite, le infezioni in questo gruppo di neonati possono essere considerate condizioni idiopatiche.



Modello ipotetico di architettura genetica delle infezioni neonatali

UN MODELLO GENERALE PER SPIEGARE LA SUSCETTIBILITÀ alle infezioni neonatali in neonati a termine e pretermine non è finora stato proposto.

In medicina neonatale, singoli fattori di suscettibilità con elevata penetranza clinica (varianti genetiche rare, immunoglobuline materne patogenetiche) spiegano le mani-

festazioni più gravi di patologia che si verificano in neonati senza comorbidità (a termine o *late-preterm*) (Tabella 1). Al contrario, i processi patologici che si verificano in neonati pretermine e/o con comorbidità, di gravità variabile, hanno sovente una origine multifattoriale, ovvero dipendono dal contributo combinato di polimorfismi genetici (varianti geniche frequenti nella popolazione generale), dalle condizioni mediche del paziente, da fattori iatrogeni e da altri determinanti ambientali. Tali considerazioni, valide per diverse patologie d'organo, sono verosimilmente valide anche per le infezioni neonatali (Tabella 1).

Sulla base delle considerazioni sopra riportate, abbiamo recentemente modificato un modello di architettura genetica delle infezioni umane precedentemente proposto da Alcais *et al.*² per spiegare le infezioni sia nei neonati a termine che pretermine (Figura 1).



Tabella 1. Meccanismi patogenetici in neonati a termine e pretermine.

Organo/tessuto	Fenotipo	Disordini monofattoriali	Condizioni multifattoriali
Globuli rossi, fegato	Icttero neonatale con/senza encefalopatia da bilirubina	Disordini monogenici (Sferocitosi, Ellissocitosi, deficit di G6PDH, sindromi di Lucey-Driscoll e Crigler-Najjar) Ab materni (Alloimmunizzazione ABO/Rh)	Prematurità, acidosi metabolica o respiratoria, alterazioni della barriera emato-encefalica, ipoproteinemia, immaturità epatica, policitemia
Linea megacariocitica	Trombocitopenia neonatale	Disordini monogenici (Trombocitopenie genetiche) Ab materni (Trombocitopenie auto- o allo-immuni)	Trombocitopenia nel neonato piccolo per l'età gestazionale, neonati con asfissia perinatale, trombocitopenia in neonati con infezioni batteriche o virali e/o con coagulazione intravascolare disseminata
Tiroide	Ipotiroidismo neonatale	Disordini monogenici (Disgenesia della tiroide e disormonogenesi su base genetica) Ab materni (Anti-TPO, Anti-TSHr, Anti-TG)	Esposizione materna o neonatale a soluzioni iodurate (Effetto Wolff-Chaikoff per assorbimento transdermico)
Sistema immunitario	Infezione neonatale	Malformazioni urinarie Predisposizione Mendeliana a infezioni gravi? Ab materni anti-citochine?	Infezioni in neonati con co-morbidità che facilitano l'esposizione o la traslocazione di patogeni nei tessuti profondi

La tabella riporta esempi di malattie neonatali che possono essere spiegate sia da condizioni monogeniche che da condizioni multifattoriali. L'elenco non è esaustivo e altre condizioni possono essere spiegate dagli stessi meccanismi (aritmie, disordini neuromuscolari). Le condizioni monofattoriali, che includono disordini monogenici e Ab materni, sono, in generale, condizioni clinicamente gravi, spesso spiegano la patologia in neonati a termine, ma possono anche essere alla base della patologia in neonati pretermine. Le condizioni a patogenesi complessa/multifattoriale sono più spesso alla base di fenotipi clinici in neonati pretermine e/o con comorbidità.

Ab=anticorpi; G6PDH=Glucose-6-Phosphate dehydrogenase; TPO=tireoperossidasi; TSHr=recettore del TSH (Thyroid Stimulating Hormone); TG=Tireoglobulina.

Ipotesi di meccanismi patogenetici molecolari

NELLE SCORSE DUE DECADI, LO STUDIO DELLE MALATTIE infettive dell'età pediatrica e dell'età adulta ha svelato nuovi e inattesi meccanismi patogenetici di suscettibilità a specifici microrganismi che potrebbero fare luce sulle basi molecolari delle infezioni neonatali.

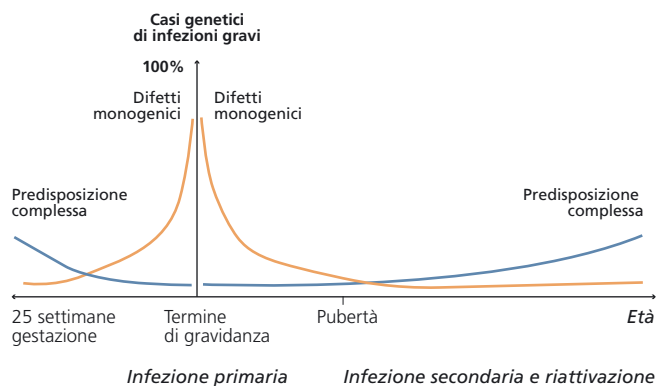
In linea con il modello sopra proposto, la suscettibilità a un dato microrganismo in neonati senza comorbilità evidenti sarebbe dovuta a un difetto della risposta neonatale protettiva specifica verso il microrganismo.³

Secondo una prima ipotesi (ipotesi genetica), un errore congenito della risposta immunitaria innata specifica nei confronti di un microrganismo che causa infezione in epoca neonatale sarebbe alla base della suscettibilità individuale a sviluppare una infezione grave in neonati altrimenti sani. Si tratterebbe cioè di una condizione monogenica/Mendeliana di immunodeficienza primitiva.

Tuttavia, gli errori congeniti dell'immunità sono in gran parte dei casi condizioni singolarmente rare e spiegherebbero probabilmente soltanto una piccola proporzione dei casi di infezione neonatale. In alternativa all'ipotesi genetica, l'ipotesi dell'interferenza materna o ipotesi degli anticorpi materni spiegherebbe i casi non monogenici. Secondo tale ipotesi, anticorpi materni neutralizzanti diretti contro componenti ancora non identificate del sistema immunitario fetale/neonatale conferirebbero una maggiore vulnerabilità nei confronti di microrganismi patogeni in epoca neonatale.³



Figura 1. Modello di architettura genetica delle infezioni umane,³ modificato da Alcais et al.² La probabilità che una condizione monogenica sia alla base di un'infezione neonatale è più elevata nel neonato a termine, mentre le infezioni nei neonati pretermine hanno, con tanta maggiore probabilità quanto più bassa è l'età gestazionale alla nascita, un'origine multifattoriale.



Evidenza a supporto delle ipotesi

1) RUOLO DEI POLIMORFISMI GENETICI IN NEONATI PRETERMINE

Diversi studi si sono prefissati l'obiettivo di studiare le basi genetiche delle infezioni del neonato pretermine. Oltre a studi di associazione di polimorfismi su geni candidati,⁴ un recente studio di associazione di polimorfismi sul genoma (genome-wide association study, GWAS) non ha mostrato significative associazioni tra polimorfismi genetici e suscettibilità a infezioni in neonati VLBW.⁵ Tali risultati, negativi, sono in linea con una patogenesi complessa/multifattoriale delle infezioni nel neonato pretermine e confermano il modello per cui solo una molto piccola percentuale del rischio infettivo, difficilmente misurabile con i metodi oggi disponibili, è probabilmente spiegata dalla variabilità genetica individuale in questo gruppo di neonati.

2) PREDISPOSIZIONE MENDELIANA ALLE INFEZIONI NEONATALI

Lo studio delle infezioni gravi dell'età pediatrica nell'arco delle scorse tre decadi ha dimostrato che esistono condizioni monogeniche/Mendeliane (immunodeficienze cosiddette *non convenzionali*) che conferiscono suscettibilità ad un numero ristretto di microrganismi ed in alcuni casi solo nel corso di infezioni primarie. Il fenotipo infettivo di tali condizioni, diversamente da quello delle *immunodeficienze convenzionali*, è caratterizzato da un numero limitato di episodi infettivi (a volte un singolo episodio) causato da uno spettro ristretto di microrganismi (a volte un solo microrganismo).⁶

Una serie di *case report* e descrizioni di piccole subcoorti dimostrano che alcune infezioni neonatali, tra cui l'infezione neonatale da GBS ed altre infezioni batteriche e le infezioni respiratorie da virus ad RNA, possono rappresentare la prima espressione fenotipica di immunodeficienze sia convenzionali che non convenzionali.^{7,8} La gravità clinica, la presenza di consanguineità nei genitori del probando, la presenza di multipli membri in famiglia possono rendere più forte il sospetto di una immunodeficienza alla base delle manifestazioni infettive, ma la loro assenza non la esclude.

Studi mirati ai neonati a termine altrimenti sani sono necessari sia per definire l'esatta proporzione di infezioni neonatali spiegabile da una immunodeficienza primitiva nota, sia per caratterizzare da un punto di vista molecolare le infezioni in questo gruppo di neonati che, ad oggi, rimangono in gran parte dei casi condizioni idiopatiche. →

3) ANTICORPI NEUTRALIZZANTI ANTI-CITOCINE

Recenti studi hanno identificato, in pazienti in età pediatrica ed adulti, anticorpi neutralizzanti anti-citochine, rivelando così un nuovo meccanismo di suscettibilità ai patogeni.^{6,9} Il fenotipo clinico che ne risulta si sovrappone parzialmente o totalmente al fenotipo di condizioni monogeniche che interessano le stesse vie di segnale, dimostrando che la patologia Ab-mediata può rappresentare una immuno-fenocopia di un disordine monogenico anche nell'ambito delle malattie infettive. Nei neonati i processi autoimmunitari sono più eccezionali che rari, ma il passaggio transplacentare di allo- o auto-Ab patogenetici materni è un meccanismo riconosciuto di patologia fetale e neonatale.

4) ULTERIORI FATTORI

Nel modello proposto, determinanti della virulenza del microrganismo e fattori dell'ospite (Ab materni antimicrobici protettivi, microbioma vaginale e del latte materno, processi di maturazione del sistema immunitario) potrebbero modulare la gravità clinica o spiegare la maggiore o minore penetranza ed espressività del processo patogenetico.



Conclusioni

LO STUDIO DELLE INFEZIONI NEONATALI PRESENTA difficoltà del tutto peculiari, sia di ordine pratico che scientifico. Il sistema immunitario neonatale è, come tutti gli organi e sistemi nel periodo perinatale, un sistema non-ridondante e in rapidissima evoluzio-

ne a causa delle profonde modifiche necessarie alla transizione dalla vita intrauterina alla vita postnatale, cui si aggiungono la complessità dell'interazione tra i sistemi materno e neonatale (sistema immunitario e microbioma materni e neonatali), la virulenza del microrganismo, la complessità degli eventi metabolici neonatali.¹⁰

Il modello proposto vuol essere un primo passo per muoversi nell'intricato campo delle infezioni neonatali. Le ipotesi proposte (fattori genetici o anticorpi materni nel neonato a termine, patogenesi multifattoriale nel neonato pretermine) non sono in contrasto con l'attuale stato dell'arte e ricalcano molto da vicino i modelli già noti e validati di patologia dell'epoca neonatale (l'encefalopatia da bilirubina, la piastrinopenia neonatale, l'ipotiroidismo congenito ed altre). In tali patologie la conoscenza dei meccanismi molecolari ha permesso di mettere in atto strategie preventive di notevole efficacia.

Una comprensione più profonda dei meccanismi molecolari alla base della suscettibilità individuale alle infezioni neonatali è un passo imprescindibile nel cammino verso lo sviluppo di protocolli di prevenzione efficaci e personalizzati ■

Bibliografia

1. GBD 2015 Mortality and Causes of Death Collaborators. Global, regional, and national life expectancy, all-cause mortality, and cause-specific mortality for 249 causes of death, 1980-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet* 2016;388:1459-544.
2. Alcais A, Quintana-Murci L, Thaler DS, Schurr E, Abel L, Casanova JL. Life-threatening infectious diseases of childhood: single-gene inborn errors of immunity? *Ann N Y Acad Sci* 2010;1214:18-33.
3. Borghesi A, Stronati M, Fellay J. Neonatal Group B Streptococcal Disease in Otherwise Healthy Infants: Failure of Specific Neonatal Immune Responses. *Front Immunol* 2017;8:215.
4. Esposito S, Zampiero A, Pagni L, et al. Genetic polymorphisms and sepsis in premature neonates. *PLoS One* 2014;9:e101248.
5. Srinivasan L, Page G, Kirpalani H, et al. Genome-wide association study of sepsis in extremely premature infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2017 Mar 10.
6. Bousfiha A, Jeddane L, Al-Herz W, et al. The 2015 IUIS Phenotypic Classification for Primary Immunodeficiencies. *J Clin Immunol* 2015;35:727-38.
7. Licciardi F, Montin D, Versace A, et al. Familial segregation of group B streptococcal infection in a consanguineous kindred. *Int J Infect Dis* 2016;51:22-4.
8. Walkovich K, Connelly JA. Primary immunodeficiency in the neonate: early diagnosis and management. *Semin Fetal Neonatal Med* 2016;21:35-43.
9. Doffinger R, Helbert MR, Barcenas-Morales G, et al. Autoantibodies to interferon-gamma in a patient with selective susceptibility to mycobacterial infection and organ-specific autoimmunity. *Clin Infect Dis* 2004;38:e10-4.
10. Dessi A, Corsello G, Stronati M, et al. New diagnostic possibilities in systemic neonatal infections: metabolomics. *Early Hum Dev* 2014;90:S19-S21.