

**L'INFEZIONE DA HIV:
ASPETTI GENERALI**

ASPETTI VIROLOGICI E PATOGENETICI CONCERNENTI L'INFEZIONE DA HIV

Carlo Mengoli

Professore Associato di Malattie Infettive - Istituto di Microbiologia, Università di Padova

1

Struttura e ciclo biologico dei Retrovirus

I retrovirus (1) sono contraddistinti da un piccolo virione sferico circondato da un involucro lipidico. Il nucleocapside ha struttura icosaedrica. Nel caso dell'agente eziologico della sindrome da immunodeficienza acquisita (AIDS) l'involucro è corredato di numerose spicule formate dalle due glicoproteine maggiori di superficie, gp120 (esterna) e gp42 (transmembrana).

Il virione si libera dalla cellula per "gemmazione" incorporando nel doppio strato lipidico proteine dell'ospite fra cui antigeni del complesso maggiore di istocompatibilità (MHC) umano di classe I e II.

Il genoma comprende due molecole identiche di RNA collegate in una struttura dimerica. Trattasi di materiale simile a RNA messaggero cellulare, comprendendo una struttura *cap* all'estremità 5' ed una sequenza poli-A all'estremità opposta. I retrovirus sono dotati di tre geni principali, *gag*, *pol*, *env*. Il primo codifica alcune proteine *core*. Fra le proteine strutturali che formano la capside è incluso l'antigene p24. Il secondo contiene l'informazione necessaria alla sintesi di proteine dotate di attività enzimatica: DNA polimerasi RNA dipendente (trascrittasi inversa, RT), integrasi e proteasi; l'area genica che codifica quest'ultimo enzima è denominata *pro*. Il terzo gene codifica due proteine di involucro.

La proteasi è necessaria a scindere due precursori proteici, il polipeptidi Gag e Pol nelle proteine definitive, provviste dell'attività enzimatica e delle qualità strutturali necessarie all'assemblaggio di virioni funzionanti. Ad esempio, la poliproteina Gag (Pr55^{gag}) viene frammentata nelle proteine capsidiche mature MA (p17), CA (p24), p2, NC (p7), p1 e p6. In aggiunta a questi geni principali l'agente eziologico dell'AIDS, HIV (human immunodeficiency virus) è dotato di almeno sei piccoli geni (*tat*, *rev*, *nef*, *vif*, *vpr*, *vpu*) necessari alla complessa regolazione di un ciclo vitale che comprende una fase latente ed una fase di attiva replicazione.

I retrovirus umani possono essere distinti in due gruppi; il primo comprende agenti dotati di proprietà trasformanti nei confronti dei linfociti T (genere HTLV-BLV), il secondo annovera virus provvisti di proprietà citolitiche, capaci di produrre infezioni lentamente progressive (*Lentivirus*).

Tab. 1: Retrovirus patogeni per l'uomo

Agenti eziologici	Malattie
Genere <i>HTLV-BLV</i> HTLV-I HTLV-II	Linfoma a cellule T, mielopatia (paraparesi spastica tropicale) Ruolo patologico indefinito; virus isolato da casi di leucemie a cellule capellute
Genere <i>Lentivirus</i> HIV-1 HIV-2	AIDS AIDS; virus distinto da HIV-1, circola soprattutto in Africa occidentale

La causa più importante di AIDS, e, più in generale, di infezione da HIV è rappresentata da HIV-1. Questo retrovirus dimostra parentela filogenetica con un virus isolato dallo scimpanzé (SIV_{cpz}).

La variabilità di sequenza genomica fra i diversi ceppi di HIV-1 è particolarmente accentuata a livello di *env*, risultando compresa fra poche unità percentuali e 50%. La variabilità del gene *env* si concentra largamente in alcune regioni ipervariabili. Una di questa, V3, rappresenta un bersaglio importante per gli anticorpi neutralizzanti e per l'immunità cellulomediata.

HIV-1 comprende diversi sottotipi contraddistinti da differente distribuzione geografica. I sottotipi di HIV-1 possono essere raggruppati in due gruppi, M (maggiore) e O (*outlier*). Il gruppo M comprende almeno 8 sottotipi (da A ad H), ed è responsabile della maggior parte delle infezioni; il gruppo O e il gruppo M sono filogeneticamente distanti.

Tab. 2: Distribuzione geografica dei sottotipi o *clades* di HIV

Clade	Area geografica
A	Africa centrale
B	Sud America, Europa, Tailandia
C	Brasile, India, Africa meridionale, Cina
D	Africa centrale
E	Tailandia, Repubblica Centrafricana, Cina
F	Brasile, Romania, Zaire
G	Zaire, Gabon, Taiwan
H	Zaire, Gabon
O	Camerun, Gabon

Il sottotipo A è il più comune, a livello mondiale. In Europa e nelle Americhe prevale B (effetto “fondatore”?). In Africa prevalgono A, C e D (oltre il 75%). In Asia si trovano soprattutto E, C e B. E è frequente nel Sud-Est asiatico, C è prevalente in India.

HIV-2 è stato identificato in un paziente dell’Africa occidentale nel 1986; frequente soprattutto in tale area geografica, è stato successivamente isolato in Europa ed in America. HIV-2 è tassonomicamente vicino a retrovirus isolati da scimmie quali *sooty mangabey* e macaco (SIV_{smn}, SIV_{mac}).

Il ciclo replicativo di HIV comprende le fasi seguenti.

A. Legame: Il virione si lega alla cellula bersaglio per effetto dell’interazione fra gp120 e il recettore CD4. Si tratta di una proteina di 55 kDa rinvenibile principalmente su linfociti T *helper*, ma espressa anche da monociti/macrofagi e cellule dendritiche/cellule di Langerhans.

Per la fusione del virus con la superficie cellulare (premessa per la successiva internalizzazione) è necessario l’intervento di un corecettore. Si tratta di CXCR4 nel caso dei ceppi T-tropici di HIV-1, di CCR5 nel caso dei ceppi dotati di tropismo per i macrofagi (M-tropici). CXCR4 è il recettore per SDF-1, una α -chemochina. CCR5 è il recettore per le β -chemochine. Ambedue i corecettori sono rappresentati da molecole provviste di sette domini transmembrana (7TM), funzionalmente accoppiate alla proteina G (2).

I ceppi M-tropici infettano in vitro colture primarie di macrofagi, mentre sono incapaci di infettare linee di cellule T trasformate. I ceppi T-tropici hanno caratteristiche reciproche. I linfociti T ottenuti dal sangue periferico sono suscettibili ad ambedue le classi di HIV-1. CCR5 svolge un ruolo importante nell’infezione primaria. Trattasi del recettore per le β -chemochine RANTES (*regulated on activation, normal T cell expressed and secreted*), *macrophage inflammatory protein* (MIP)-1a e MIP-1b.

In effetti queste molecole, che rientrano fra i fattori HIV-soppressivi prodotti dai linfociti CD8, inibiscono l’infezione della cellula da parte di ceppi M-tropici di HIV-1.

Una minoranza fra i ceppi HIV-1 M-tropici usa altri corecettori, CCR2b o CCR3. La lista dei recettori chemochinici (7TM) implicati come corecettori di HIV comprende CCR8 ed una serie di recettori “orfani” di ligandi naturali (fra questi citiamo BONZO/STRL33, BOB/GPR15) (3).

Inoltre, tre recettori chemochinici putativi supportano l’ingresso nella cellula bersaglio sia di ceppi M-, sia di ceppi T-tropici.

Dobbiamo aggiungere che taluni ceppi di HIV-1 possono usare diversi corecettori (multi-tropismo).

La fusione tra *envelope* e membrana cellulare ha luogo con l’intervento di gp41, la glicoproteina inserita nell’involucro lipidico del virione. Una volta internalizzato nella cellula ospite, il genoma virale si libera della capsida (*uncoating*).

B. Sintesi di DNA: La trascrittasi inversa trasferisce l’informazione genomica in DNA a doppio filamento di nuova formazione. Nel processo le estremità del genoma virale sono copiate due volte; in tal modo sono generate le *long terminal repeats* (LTR), sequenze provirali con funzioni di controllo. Esse fiancheggiano il genoma. Elementi regolatori sono contenuti nelle LTR:

- un segnale di poliadenilazione;
- il promotore TATA;
- siti leganti gli *enhancer* NF-kB e SP1;
- TAR, elemento legante la proteina **tat** (prodotto genico di **tat**, transattivatore virale);
- NRE, elemento regolatore negativo.

C. Integrazione: Il DNA virale a doppio filamento trasloca nel nucleo, dove si integra in maniera casuale nei cromosomi dell'ospite. Interviene un enzima virale (integrasi) che salda gli estremi delle due LTR al DNA cellulare.

Il provirus rimane latente oppure si manifesta con vari livelli di espressione genomica, culminante nella produzione di nuovi virioni. Nello stato integrato il genoma virale è denominato provirus e si comporta come un gene cellulare, che viene trasferito alle cellule figlie nel corso della mitosi.

D. Trascrizione: Diversi fattori cellulari e virali possono interagire nel regolare il passaggio dallo stato di infezione latente a quello di infezione produttiva. L'attivazione cellulare è necessaria alla replicazione virale. L'integrazione del DNA virale retrotrascritto e la trascrizione del genoma provirale non hanno luogo in maniera efficiente nella cellula quiescente. Diversi fattori cellulari e virali possono interagire nel regolare il passaggio dallo stato di infezione latente a quello di infezione produttiva.

E. Maturazione del virione: La trascrizione del genoma virale è seguita dalla traduzione. Le proteine codificate dal virus subiscono una processazione post-sintetica (glicosilazione, miristilazione, fosforilazione e clivaggio proteolitico).

Il nuovo virione supera la membrana cellulare attraverso un processo di *budding*, dotandosi di un involucro esterno.

Patogenesi e storia naturale dell'infezione

TRASMISSIONE

Il virus contenuto nel sangue del donatore entra direttamente in quello del soggetto ricevente mediante la trasfusione, l'infusione di emoderivati e l'uso di aghi contaminati. Altre vie di contagio dipendono da un contatto mucoso, essenzialmente di tipo sessuale, soprattutto se v'è abbastanza trauma da produrre sanguinamento. Il contagio ha luogo quando un secreto infetto (sperma, secrezioni cervico-vaginali, latte materno) viene a contatto con una mucosa recettiva (vagina, retto, uretra, vie digerenti superiori). Ha un ruolo importante anche la trasmissione verticale (materno-fetale), transplacentare o perinatale (*intra-partum*).

INFEZIONE

L'infezione ha inizio quando un ceppo di HIV con fenotipo M-tropico non induttore di sinizio (NSI) interagisce con cellule di tipo macrofagico, dotate di corecettore CCR5.

Il virus viene trasportato per via ematica agli organi linfoidi regionali, dove si replica fino ad un livello critico; segue un episodio viremico. In tal modo HIV si diffonde nell'organismo. Alla viremia iniziale può corrispondere una sindrome infettiva acuta che si protrae per alcune settimane. Sul piano clinico si può osservare una sindrome simil-mononucleosica. La *poussée* viremica si verifica anche nei casi in cui l'infezione iniziale resta clinicamente silente. Il valore prognostico del livello quantitativo della viremia primaria appare incerto. La determinazione della viremia a sei mesi-un anno dall'infezione sembra invece predire attendibilmente la velocità di progressione della malattia.

CELLULE DENDRITICHE

Le cellule dendritiche svolgono un ruolo incerto nell'infezione da HIV; sono elementi cellulari che svolgono una importante funzione accessoria nella risposta immunitaria, essendo efficienti nel presentare l'antigene ai linfociti. Secondo alcune segnalazioni esprimono CD4, seppure a basso livello.

Le cellule dendritiche dei linfonodi contraggono stretti rapporti con i linfociti CD4. Non sappiamo, tuttavia, se le cellule dendritiche siano suscettibili all'infezione da HIV o se si limitino a fungere da veicoli per l'agente virale.

Considerabile interesse è focalizzato sulle cellule dendritiche della cute e delle mucose (c. di Langerhans). Nel modello SIV-macaco, le cellule dendritiche della mucosa si infettano con l'esposizione della mucosa stessa al virus.

L'efficienza della trasmissione di HIV tramite contatto mucoso potrebbe essere spiegata dall'infezione preliminare di queste cellule. Le cellule di Langerhans sono quindi veicolate nei linfonodi regionali, ove possono facilmente trasmettere il virus ai linfociti T.

TESSUTO LINFOIDE

HIV invade diffusamente il tessuto linfoide. Esaurita la fase primaria, l'infezione entra in una condizione di latenza clinica, ma non virologica. La replicazione virale si mantiene attiva, attestandosi su livelli entità variabile. Nonostante la vigorosa risposta immune umorale e cellulare il virus non viene eliminato completamente. La risposta immune primaria è contrassegnata dall'espansione di cloni citolitici CD8+ (CTL) ad alta affinità, come è dimostrato dall'analisi clonotipica. Tuttavia, queste cellule spariscono abbastanza rapidamente. La massiva replicazione virale e la saturazione delle cellule che presentano l'antigene sembrano generare un segnale tolerogenico. Si ritiene che i cloni espansi inizialmente siano eliminati dal sovraccarico antigenico collegato con la viremia primaria. Ciò nonostante, cloni meno espansi che riconoscono i medesimi epitopi persistono, garantendo il parziale controllo dell'infezione. Un altro meccanismo di evasione dalla risposta immunologica consiste nella segregazione dei CTL HIV-specifici e dei precursori di tali cellule nel sangue periferico, anziché nel tessuto linfatico, sede principale della replicazione virale. Si forma inoltre un ampio *pool* di cellule infettate in maniera latente; esse sfuggono ai

CTL virus-specifici. Inoltre, HIV ha una straordinaria capacità di mutare, sfuggendo all'eliminazione da parte del sistema immunitario. Tuttavia, la mancata eradicazione di HIV non è spiegata adeguatamente dall'insorgere di mutazioni virali precoci; gli epitopi presentati inizialmente dal virus sono ancora presenti. In ogni modo, nonostante la comparsa di anticorpi specifici, il virus sfugge alla risposta immune.

L'aspetto fisiopatologico fondamentale nella malattia da HIV consiste nella progressiva riduzione dei linfociti T helper. Questo sottoinsieme cellulare è definito fenotipicamente dalla molecola CD4. Resta incerto il meccanismo alla base della deplezione delle cellule CD4+, a parte l'azione citolitica diretta di HIV.

Con poche eccezioni, il livello dei linfociti T CD4+ declina gradualmente e progressivamente. La velocità di decremento del livello dei CD4+ nel tempo consente di prevedere la durata della latenza clinica.

La disponibilità di tecniche di rilevazione della viremia mediante PCR ha consentito di dimostrare che la viremia plasmatica è presente per tutta la durata dell'infezione.

I linfociti nel sangue periferico rappresentano solo il 2% del pool linfoide totale. Il virus circolante è prevalentemente prodotto nel tessuto linfoide (linfonodi, milza, tessuto linfoide associato alle mucose). L'impegno linfoghiandolare è sempre dimostrabile clinicamente ed istologicamente.

La linfadenopatia generalizzata persistente, che domina la fase clinica che precede lo stadio di immunodeficienza conclamata, in alcuni pazienti è precoce e prolungata, in altri è meno importante e duratura. La possibilità che una linfadenopatia accentuata sia espressione di una reazione immunitaria particolarmente efficiente è stata smentita.

La dinamica della produzione e del *turnover* del virus è stata studiata somministrando congiuntamente inibitori di RT e della proteasi virale. Il trattamento con tale combinazione di farmaci (HAART, *highly active anti-retroviral therapy*) è apparsa in grado di abbattere la viremia del 99% in due settimane. L'emivita dei virioni circolanti è risultata di 6 ore, mentre quella delle cellule infettate produttivamente fu quantificata in 1.6 giorni. Il 99% del virus circolante appariva prodotto da cellule infettate di recente. La produzione giornaliera di HIV-1, e il ricambio giornaliero in condizioni di sostanziale stazionarietà, risultò 10^{10} virioni. Il tempo di generazione medio del virus venne stimato in 2.6 giorni. La produzione di virus nei linfonodi si ridusse in stretto parallelismo con il declino della viremia plasmatica. Contemporaneamente, il numero dei linfociti CD4+ è aumentato, suggerendo un ruolo citolitico diretto da parte del virus.

Dopo un periodo variabile, (valore mediano di 10 anni), la conta dei linfociti T scende sotto ad un valore critico di 200 per ml e il paziente diviene altamente suscettibile ad infezioni opportunistiche. I pazienti possono manifestare segni sistemici di processo infiammatorio, oppure possono incorrere in un'infezione opportunistica non preceduta da segni premonitori. Nel frattempo, il declino dei linfociti CD4+ continua senza sosta.

Il trattamento terapeutico e profilattico delle principali infezioni opportunistiche rende possibile la sopravvivenza di pazienti con immunodepressione estremamente marcata (meno di 10 CD4+ per ml). Infine, i pazienti che raggiungono le forme di immunodepressione più spinta generalmente soccombono ad infezioni opportunistiche o a neoplasie.

Il monitoraggio virologico ed istopatologico dei linfonodi e del sangue periferico ha messo

in evidenza tre stadi nel decorso dell'infezione:

- 1. precoce asintomatico**, con oltre 500 cellule CD4+ per ml di sangue periferico;
- 2. intermedio**, con 200 - 500 CD4+/ml;
- 3. avanzato**, con < 200 CD4+/ml.

Nello stadio precoce, asintomatico, la viremia plasmatica è bassa, il numero delle cellule infette circolanti è modesto, l'espressione virale nelle cellule infette è esigua. Nei linfonodi una quantità rilevante di virus è fissata ai processi delle cellule follicolari dendritiche (FDC) nei centri germinativi dei linfonodi. L'ibridazione *in situ* dimostra che alcune cellule sparse replicano il virus, nelle aree paracorticali e, in misura minore, nei centri germinativi. L'architettura dei centri germinativi è ben conservata. Questi sono iperplastici, in seguito a proliferazione di linfociti B e ad intrappolamento di cellule circolanti.

L'interazione fra virus, FDC ed immunociti comporta la secrezione di citochine pro-infiammatorie, IL-1b, TNF- α , IL-6 (ove IL sta per "interleuchina" e TNF sta per *tumor necrosis factor*). Queste sono in grado di attivare la replicazione del virus nelle cellule infette.

Con il progredire della malattia l'architettura dei centri germinativi comincia a mostrare fenomeni regressivi. Le FDC manifestano segni di sofferenza (rigonfiamento di organelli) e cominciano a morire. L'intreccio costituito dai processi dendritici si dissolve e il virus si riversa in circolo.

Lo stato di cronica attivazione del sistema immunitario è dimostrato da:

- ipergammaglobulinemia policlonale;
- proliferazione spontanea dei linfociti;
- attivazione dei monociti;
- espressione di marcatori di attivazione da parte dei linfociti CD4+ e CD8+;
- iperplasia linfonodale;
- aumentata secrezione di citochine proinfiammatorie;
- elevati livelli di neopterina, b2-microglobulina, interferone acido-labile e recettori solubili per IL-2;
- fenomeni autoimmuni.

In conseguenze dell'attivazione cellulare:

- HIV infetta, retrotrascrive e replica meglio nelle cellule attivate;
- cellule infettate in maniera latente possono diventare produttive;
- il sistema immunitario nel suo complesso può perdere la capacità a esprimere una risposta specifica in maniera sostenuta;
- il processo di apoptosi può essere innescato.

APOPTOSI

Il ruolo dell'apoptosi nell'infezione da HIV è incerto. L'apoptosi è una forma di morte cellulare programmata. Trattasi di un meccanismo normale nell'organogenesi e nel controllo della proliferazione cellulare. L'apoptosi dipende strettamente dallo stato di attivazione

cellulare. L'intensità dell'apoptosi nell'ambito del tessuto linfoide è correlata con lo stato di attivazione del sistema immunitario. Nell'infezione da HIV il tasso di apoptosi è elevato. Il fenomeno riguarda oltre ai linfociti T CD4+, anche cellule CD8+ e linfociti B. È probabile che l'apoptosi di immunociti contribuisca alle anomalie immunologiche che caratterizzano l'AIDS. Alterazioni nell'attività tirosina-chinasica della cellula infettata da HIV possono innescare l'apoptosi. Il primo segnale apoptotico, secondo un'ipotesi, sarebbe rappresentato da legami crociati fra CD4 resi possibili da gp120, oppure da complessi gp120/anti-gp120. Il secondo segnale potrebbe essere erogato alla cellula T dall'interazione fra il recettore T-linfocitario (TCR) e un antigene convenzionale o un superantigene.

SUPERANTIGENI

Gli antigeni convenzionali, collocatisi nella nicchia della molecola MHC sulla cellula accessoria che presenta l'antigene, interagiscono con la regione variabile (V) delle catene a e b che delimitano il sito legante l'antigene di *T cell receptor* (TCR). Il polimorfismo del sito legante l'antigene è molto elevato, frutto della giunzione combinatoria

- dei *loci* V/D/J per la catena a;
- dei *loci* V/J per la catena b;
- di altri eventi generatori di variabilità [ricombinazione imprecisa ed inserimento di regioni N non codificate nella linea germinale (4)].

Perciò un antigene peptidico convenzionale può stimolare solo una piccolissima frazione ($< 10^{-5}$) dei linfociti T totali.

Diversamente da quanto avviene per gli antigeni convenzionali, la sede dell'interazione fra superantigeni e TCR è collocata all'esterno della nicchia di legame. Per la precisione, essi si pongono in contatto con la regione V della catena b. Poiché il polimorfismo delle regioni Vb è limitato (vi sono 24 famiglie o sottoinsiemi di T linfociti, in base alla regione Vb espressa) un superantigene può legarsi ad una frazione molto elevata dei linfociti T totali (1-10%). A seconda dello stato funzionale delle cellule, il segnale erogato può essere mitogenico o può comportare la delezione apoptotica dei linfociti che esprimono la specifica regione Vb "prescelta" dal superantigene.

Tuttavia, non c'è evidenza di superantigeni codificati da HIV. Inoltre, non v'è prova di delezione di *subsets* T-linfocitari da parte di superantigeni nella malattia da HIV. D'altra parte, in via teorica, microrganismi opportunisti produttori di superantigeni potrebbero contribuire alla patogenesi della malattia attivando numerosi linfociti T CD4+, i quali diverrebbero più suscettibili all'infezione da parte di HIV.

FENOMENI AUTOIMMUNI

Questi eventi sono comuni e riflettono, almeno in parte, lo stato di attivazione immunitaria cronica. Sono stati descritti anticorpi diretti contro linfociti, piastrine, neutrofili, componenti nucleari, cardiolipina, CD4, CD43, IL-2, albumina, immunoglobuline, tireoglobulina. Inoltre, vi sono regioni di omologia e di reattività crociata fra glicoproteine di HIV e:

- antigeni MHC di I e II classe
- IL-2.

CITOCHINE

I principali fattori endogeni che regolano l'espressione di HIV sono rappresentati dalle citochine. L'espressione di HIV può essere modulata manipolando citochine endogene o aggiungendo citochine esogene alle colture. Citochine che inducono l'espressione di HIV sono IL-1, IL-2, IL-3, IL-6, IL-12, TNF- α , TNF- β , M-CSF, GM-CSF. Potenti induttori sono le citochine proinfiammatorie TNF- α , IL-1 β e IL-6.

Effetto soppressivo dimostrano IFN α e β .

Transforming growth factor (TGF)- β , IL-4 e IL-10 hanno effetto variabile, a seconda dello stato funzionale del sistema interessato.

Le b-chemochine RANTES, *macrophage inflammatory protein* (MIP)-1a e MIP-1 β inibiscono i ceppi M-tropici di HIV-1 (infezione cellulare e diffusione del virus). *Stromal cell-derived factor* (SDF)-1 inibisce i ceppi T-tropici.

Il meccanismo molecolare della regolazione cui HIV viene sottoposto è ben definito nel caso di TNF- α . Questa citochina attiva le proteine NF- κ B, che funzionano come attivatori trascrizionali dell'espressione di HIV. IL-1 β agisce a livello della trascrizione virale in maniera indipendente da NF- κ B. IL-6, GM-CSF e IFN γ regolano l'espressione di HIV tramite meccanismi prevalentemente post-trascrizionali. RANTES, MIP-1a e MIP-1 β inibiscono l'infezione cellulare interferendo a livello di corecettore CCR5.

Elevati livelli di TNF- α e IL-6 sono stati dimostrati nel plasma e nel liquor di pazienti con infezione da HIV. Inoltre, elevati livelli delle citochine sopra citate, di IL-1 β nonché di IFN γ sono stati segnalati nei linfonodi.

RISPOSTE DI TIPO TH-1 E TH-2

Le cellule T *helper* (TH)-1 sono caratterizzate da secrezione di IL-2 e IFN γ ; funzionalmente favoriscono le immunoreazioni cellulo-mediate. Le cellule TH-2 producono IL-4, IL-5 e IL-10; sul piano funzionale incentivano le risposte umorali.

I pazienti con infezione da HIV manifestano una evidente riduzione delle risposte di tipo TH-1. Un netto sbilanciamento a favore delle risposte TH-2 è stato proposto come l'evento critico nella progressione morbosa nella malattia da HIV. Tuttavia, il pattern citochinico non è stato posto in chiara correlazione con l'andamento della malattia.

BERSAGLI CELLULARI E RECETTORI

I principali bersagli per il virus sono rappresentati da linfociti T e monociti/macrofagi; solo queste cellule dimostrano in maniera inequivocabile di poter essere infettate da HIV. Tuttavia, altre cellule esprimono CD4 e costituiscono obiettivi potenziali per il virus. Inoltre, secondo diverse segnalazioni, HIV infetta numerosi tipi di cellula; in taluni casi la cellula

esprime CD4 a basso livello, in altri casi no. La rilevanza di tali osservazioni è tuttora incerta.

Di possibile rilevanza clinica è il fatto che cellule pre-timiche CD3, CD4, CD8-negativa possono essere infettate in vitro. Inoltre, cellule epiteliali timiche umane impiantate nel topo immunodeficiente possono essere infettate mediante inoculazione intratimica del virus. Inoltre, precursori monocitici CD34+ sono stati dimostrati albergare HIV in vivo, in pazienti con malattia avanzata. È verosimile che questi precursori esprimano CD4 a basso livello. Questi reperti possono altresì spiegare l'impossibilità di una piena ricostituzione immunologica, anche in corso di trattamento antiretrovirale efficace.

La capacità infettante di HIV varia con il ceppo. Virioni M-tropici non induttori di sincizio (NSI) predominano nel sangue periferico durante le fasi iniziali dell'infezione da HIV. Nelle fasi avanzate sono invece comuni virus T-tropici con fenotipo *syncytium inducer* (SI).

Sono anche stati descritti sia ceppi *dual-tropic*, sia l'intervento di altri corecettori (CCR2b, CCR3).

Il galattosil-ceramide può servire da recettore alternativo per HIV in cellule neuronali ed epiteliali.

I determinanti virali del tropismo cellulare sono codificati a livello del gene **env**, nella regione V3 di gp120 in particolare; tuttavia, i dettagli molecolari non sono stati chiariti.

LINFOCITI T

La risposta anamnesticca ad antigeni solubili (tossoidi tetanici, vaccino influenzale) declina precocemente; segue la perdita della responsività agli alloantigeni MHC ed ai mitogeni policlonali. Ad un certo punto tutte le funzioni T-linfocitarie risultano compromesse. Queste anomalie comprendono bassa efficienza nella formazione di colonie T-cellulari in vitro, ridotta espressione del recettore di IL-2, difettiva produzione di IL-2, diminuita produzione di IFN γ in risposta ad antigeni, insufficiente azione *helper* della cellula T CD4+ nei confronti di linfociti B.

Il livello dei T-linfociti CD8+ si modifica nel corso della malattia. Inizialmente, soprattutto in coincidenza con la risoluzione della fase primaria, c'è una linfocitosi CD8+. Nelle fasi avanzate queste cellule vanno incontro a significativa diminuzione. L'attività citolitica HIV-specifica sottoposta a restrizione MHC espletata da CTL declina, come pure quella diretta contro antigeni anamnesticci (influenza, CMV). L'integrità della funzione delle cellule T CD8+ dipende da segnali induttivi provenienti da linfociti T CD4+; il declino funzionale dei CTL CD8+ si spiega con la perdita quantitativa degli *helper*.

Secondo talune segnalazioni, il fenotipo assunto dalle cellule CD8+ all'indomani della sieroconversione, ha significato prognostico. HLA+/CD38- è associato a stabilizzazione della conta dei CD4+, HLA+/CD38+, invece, comporta un andamento sfavorevole.

Il declino dei linfociti CD4+ è probabilmente dovuto non soltanto all'infezione diretta, ma anche ad altri meccanismi indiretti, benché correlati con il virus. Ben documentata *in vitro* è la distruzione cellulare correlata con la formazione di sincizi; questa coinvolge cellule infette e non infette.

Altri possibili meccanismi di deplezione dei CD4+ sono rappresentati da

- immunoreazioni virus-specifiche;
- meccanismi autoimmuni;
- anergia causata da interazioni cellulari inappropriate (interazione gp120/CD4);
- perturbazione mediata da superantigene;
- apoptosi;
- difetti nella rigenerazione dei CD4+.

LINFOCITI B

Queste cellule sono attivate in maniera anomala dalla secrezione aumentata e spontanea di TNF- α e IL-6; tale attivazione è documentata da indicatori quali l'ipergammaglobulinemia e la produzione di autoanticorpi.

La trasformazione dei linfociti B da parte del virus di Epstein-Barr (EBV) è facilitata dalla diminuita immunosorveglianza da parte dei linfociti T; il potenziale oncogeno di detto virus si traduce nell'induzione di linfomi a cellule B.

Le cellule B sono difettive nella risposta ad antigeni e mitogeni, *in vitro* ed *in vivo*. Questi difetti funzionali sono clinicamente avvertibili soprattutto nel bambino, sotto forma di aumentata suscettibilità alle infezioni batteriche. In certi pazienti il numero dei linfociti B circolanti diminuisce nella malattia avanzata.

MONOCITI/MACROFAGI

I monociti circolanti sono generalmente normali sul piano numerico. Queste cellule sono *target* importanti dell'infezione da HIV. *In vitro* il virus può replicare estesamente in queste cellule con scarso effetto citopatico. *In vivo*, l'infezione virale è difficilmente dimostrabile nei monociti circolanti. Tuttavia, l'infezione da HIV può essere agevolmente dimostrata in cellule macrofagiche residenti, quali:

- encefalo: cellule microgliali, macrofagi infiltranti;
- polmone: macrofagi alveolari.

Anomalie funzionali sono state segnalate nei monociti circolanti; in particolare, difetti concernenti:

- chemiotassi;
- secrezione di IL-1;
- presentazione dell'antigene;
- induzione di risposte T-cellulari;
- funzione recettoriale Fc;
- fagocitosi mediata dal recettore per C3;
- *burst* ossidativo, funzioni citotossiche.

La causa di tali disfunzioni è incerta, comunque non sembra dipendere dall'azione diretta del virus. D'altra parte, l'esposizione a gp120 e/o a citochine può causare un'attivazione anomala con conseguenti alterazioni nelle funzioni cellulari.

CELLULE DENDRITICHE

Vi sono considerevoli divergenze sulle cellule dendritiche circolanti, in relazione a:

- suscettibilità all'infezione;
- inefficienza nella presentazione dell'antigene alle cellule T;
- possibilità di una diminuzione quantitativa.

Le discrepanze fra le segnalazioni riportate in letteratura dipendono probabilmente dall'esistenza di molteplici *subsets* cellulari e dall'eterogeneità dei procedimenti di indagine.

CELLULE *NATURAL KILLER* (NK)

Il ruolo presunto è fornire sorveglianza immunologica nei confronti di cellule infettate da virus, neoplastiche ed allogeniche.

Anomalie funzionali sono state descritte nelle NK durante il decorso dell'infezione da HIV. Sul piano quantitativo sembrano normali, tuttavia, è stato riportato un calo numerico nelle cellule sottopopolazione CD16+/CD56+.

L'evento citolitico successivo al legame con la cellula bersaglio sarebbe deficitario. D'altra parte, la funzione ADCC procede normalmente, mentre in coltura l'aggiunta di IL-1 o IL-12 ripristina la piena funzionalità. In conclusione, il meccanismo della difettosa funzione delle cellule NK nei pazienti con HIV è incerto; la mancanza dei normali segnali di stimolo offerti dalle cellule CD4+, svolge comunque un indubbio ruolo causale.

Fattori condizionanti l'evoluzione della malattia

Si definisce *long-term survivor* il paziente che sopravvive 10-15 anni dopo l'infezione iniziale. Maggiore interesse sollevano i *long-term non progressor*, la prevalenza dei quali è inferiore al 5% degli infetti; la conta dei CD4+ rimane normale anche in assenza di terapia anti-retrovirale. Le caratteristiche virologiche e immunologiche consistono in:

- bassa carica provirale (basso numero di cellule infette);
- bassa viremia plasmatica;
- immunità normale;
- istologia linfonodale normale;
- vigorosa risposta immunitaria HIV-specifica e CD8+ soppressori efficienti nei confronti della replicazione di HIV.

Questi pazienti probabilmente rappresentano un gruppo eterogeneo; la mancata progressione della malattia è probabilmente riferibile, di volta in volta, a fattori virologici ovvero inerenti all'ospite.

FATTORI GENETICI INERENTI ALL'AGENTE EZIOLOGICO

Nella maggior parte di questi soggetti il virus non dimostra anomalie qualitative, benché in taluni casi il ceppo infettante sia difettivo nell'ambito del gene *nef*. In effetti, in un

gruppo di pazienti epidemiologicamente correlati è stata documentata una delezione nel gene *nef* nella regione di sovrapposizione fra *nef* e la regione U3 della LTR. Il prodotto genico di *nef* si associa con chinasi proteiniche cellulari e promuove l'infettività del virione (5).

FATTORI GENETICI INERENTI ALL'OSPITE: ANTIGENI MAGGIORI DI ISTOCOMPATIBILITÀ

Il meccanismo attraverso il quale molecole codificate da MHC possono favorire una progressione rapida o lenta verso lo stadio di AIDS dovrebbe essere collegato con la maggiore o minore efficienza di presentazione di epitopi di HIV.

Alcuni geni trasportatori associati con la presentazione dell'antigene (TAP), codificati nella regione MHC del cromosoma 6, svolgono un effetto analogo.

Favoriscono l'insorgenza del **sarcoma di Kaposi** Aw19, Aw23, B35, Bw49, B62, C4, DR1, DR2, DR5, DQ1.

Facilitano una **rapida progressione** in AIDS A1, A24, B35, C7, B8, DQ1, DQB1*0302, DR3, DR4, DR5, TAP2.1.

Trombocitopenia e **linfadenopatia** sono più comuni con DR5.

Linfocitosi CD8+ diffusa infiltrativa con **sindrome di Sjögren** è correlata con DR5 e DR6.

Lento declino dei CD4+ è segnalato con B13, B27, B51, B57, DQB1*0302, 0303.

L'attitudine ad eliminare l'infezione da HIV dopo un'infezione transitoria che rimane sieronegativa è presente con A26, B38, TAP1.4, TAP2.3.

Proteggono dall'infezione da HIV A28, Bw70, Aw69, B18.

Sono associati con sopravvivenza prolungata A11, A32, B4, B13, C2, DQA1*0301, DQB1*0302, DRB1*0400, DRB4*0101.

Inoltre, p53 (gene oncosoppressore) controlla l'andamento replicativo di HIV e favorisce la latenza virale.

Recentemente alcuni Autori (6) hanno elaborato un algoritmo finalizzato alla valutazione del ruolo di MHC nella progressione morbosa, assegnando:

- il valore +1 ai seguenti alleli protettivi: HLA-B27, B51, B57, A25 e TAP2.3 ed alle seguenti combinazioni: A26 e TAP 2.3, A32 e TAP2.3, B18 e TAP2.3;
- il valore -1 ai seguenti alleli che incrementano il rischio di progressione morbosa: B37, B49, A28 e TAP2.3 ed alle seguenti combinazioni: A29 e TAP 2.1, B8 e TAP2.1, A23 e non TAP2.3, A24 e TAP2.1 o 2.3, B60 e TAP2.1 o 2.3, B35 e Cw4;
- il valore -1 ai quattro aplotipi di classe II DRB1 - DQA1 - DQB1, quando presenti con TAP2.1: 0401-0300-0301, 1200-0501-0301, 1300-0102-0604 e 1400-0101-0503.

FATTORI GENETICI INERENTI ALL'OSPITE: MUTAZIONI DI RECETTORI CHEMOCHINICI

Una mutazione a carico del gene codificante CCR5 (recettore delle b-chemochine e corecettore di HIV) è associata a delezione di una sequenza di 32 nucleotidi (CCR5-D32), frutto di una *stop codon* prematuro. A livello di prodotto genico, questo si traduce in un difetto nel secondo *loop* extracellulare di CCR5; la proteina troncata non raggiunge la superficie

cellulare. Da ciò risulta una resistenza relativa all'infezione da parte di HIV-1 (7).

Circa l'1% della popolazione caucasica è omozigote per l'allele mutato, mentre il 14% è eterozigote. La mutazione D32 è stata segnalata solo nella popolazione bianca. Gli omozigoti per CCR5-D32 sono protetti dalla acquisizione di HIV-1, mediata sia da trasmissione sessuale, sia da trasmissione parenterale.

I linfociti ottenuti dal sangue periferico degli omozigoti per CCR5-D32 appaiono resistenti all'infezione *in vitro* quando sono cimentati con ceppi NSI. La protezione non è assoluta, tuttavia qualche raro caso di infezione (quattro in tutto) è stato segnalato in questi soggetti. Per quanto concerne gli omozigoti per CCR5-D32, diversi studi hanno riportato una progressione più lenta della malattia verso lo stadio terminale di AIDS; il *viral load* è generalmente inferiore e la velocità di declino del numero dei linfociti CD4+ è tendenzialmente più bassa. Tuttavia, taluni studi dimostrano una curva di progressione in AIDS sovrapponibile a quella degli omozigoti *wild-type*.

L'effetto protettivo di CCR5-D32 sembra verificarsi solo nei pazienti che albergano virioni M-tropici, NSI. Nel bambino infettato in sede connatale la condizione eterozigotica è apparsa foriera di bassa viremia, rallentato declino dei CD4, benefico effetto sulla progressione clinica.

Secondo una recente segnalazione, anche una sostituzione valina[®] isoleucina nel primo *domain* transmembrana del recettore CCR2 (mutazione V64I) è in grado di rallentare la progressione nella malattia (8). I *loci* di CCR2 sono collocati in posizione adiacente sullo stesso cromosoma. Gli alleli mutanti di CCR2 e CCR5 sono in squilibrio associativo (*linkage disequilibrium*) per cui CCR2-V64I è presente solo in un cromosoma contenente CCR5-(+), mentre CCR5-D32 coesiste soltanto con CCR2-(+).

Paradossalmente, nei soggetti eterozigoti per la mutazione V64I la conversione virale NSI[®] SI è più rapida, mentre nei soggetti con CCR5-D32 questa evoluzione virologica tende a rallentare (9).

In conclusione, la prevalenza combinata delle mutazioni CCR2-V64I e CCR5-D32 in forma eterozigote rende ragione di un quarto dei *long-term non progressor*. La maggior parte dei casi di mancata infezione ad onta di esposizione multipla al virus e di rallentata progressione della malattia resta tuttora da spiegare (3).

COINFEZIONI VIRALI

Il *Cytomegalovirus* umano (HCMV) induce i linfociti infetti ad esprimere un sito legante per MCP-1, MIP-1a, MIP-1b e RANTES. Il recettore chemochinico codificato da HCMV, US28, favorisce l'infezione delle cellule CD4+ da parte di HIV-1; ciò sembra giustificare una più rapida progressione della malattia da HIV-1 in caso di coesistente infezione da HCMV.

Human herpesvirus 8 (HHV-8) codifica un recettore per IL-8. Poiché l'applicazione di questa chemochina alla cornea di coniglio induce neovascolarizzazione (10), il recettore corrispondente potrebbe avere un ruolo nella promozione dell'angiogenesi osservata nel sarcoma di Kaposi [menzionato più avanti (11)].

Patogenesi delle lesioni nervose

Pazienti con AIDS incorrono in una notevole varietà di anomalie neurologiche. La causa può essere rappresentata da infezioni opportunistiche, da neoplasie oppure dallo stesso HIV. HIV è presente nel tessuto nervoso e nel liquor indipendentemente dal manifestarsi di alterazioni neuropsichiche.

Il virus infetta monociti/macrofagi e cellule microgliali.

L'ingresso di HIV nell'encefalo è connesso con la capacità dei macrofagi attivati immunologicamente di indurre nelle cellule endoteliali molecole di adesione, E-selectina, *vascular cell adhesion molecule* (VCAM).

Una componente di HIV-1, gp120 stimola l'espressione di *intercellular adhesion molecule-1* (ICAM-1). Quest'ultima facilita l'ingresso della cellula infetta nel SNC e sembra promuovere la formazione di sincizi.

Il virus isolato dall'encefalo è solitamente M-tropico.

È da aggiungere che, secondo alcune segnalazioni, neuroni ed astrociti sarebbero suscettibili, benché infrequentemente, all'infezione. A questo proposito, un componente essenziale del recettore per gp120 sulle cellule nervose sarebbe rappresentato da galattosilceramide. Data la relativa assenza d'infezione diretta dei neuroni, è improbabile che la perdita di neuroni sia direttamente causata dall'infezione di queste cellule.

Le lesioni nervose sembrano dovute all'azione (tossica o inibente) di gp120, combinata con gli effetti di diverse "neurotossine" rilasciate da monociti infiltranti, cellule microgliali residenti ed astrociti; la glicoproteina gp120, rilasciata da monociti infetti, potrebbe essere neurotossica antagonizzando la funzione di *vasoactive intestinal peptide* (VIP), aumentando il calcio intracellulare e riducendo il livello di *nerve growth factor* (NGF).

I monociti liberano neurotossine per effetto dell'infezione o dell'attivazione immunitaria. Fattori neurotossici di derivazione monocitaria ucciderebbero i neuroni attraverso il recettore per N-metil-D-aspartato (NMDA).

Diversi agenti rilasciati da monociti infetti e/o attivati possono contribuire direttamente o indirettamente agli effetti neurotossici dell'infezione da HIV:

- citochine (TNF- α , IL-1, IL-6, TGF- β , IFN γ , PAF ed endotelina);
- sostanze non peptidiche (eicosanoidi, ossido nitrico e acido chinolinico).

Astrocitosi (gliosi) reattiva è dimostrabile negli encefali di pazienti con HIV. TNF- α e IL-6 possono indurre proliferazione astrocitaria. Inoltre, IL-6 prodotta da astrociti può indurre l'espressione di HIV in cellule infette, *in vitro*. D'altra parte, gli astrociti potrebbero ridurre il livello di neurotossine di origine macrofagica. A favore di un ruolo di HIV, diretto o indiretto, nella patogenesi della malattia neurologica, milita l'efficacia e la rapidità della terapia antiretrovirale nell'indurre la regressione dei sintomi, soprattutto nei bambini.

Sarcoma di Kaposi

Il sarcoma di Kaposi (SK) è una neoformazione di aspetto angiomatico con vasi a "fessura" e con proliferazione di cellule fuse di probabile origine vascolare; la componente

infiammatoria è rilevante. Le cellule fusate hanno caratteristiche in comune con endoteli e cellule muscolari lisce. Istologicamente non si tratta di un vero sarcoma.

L'identificazione del SK in soggetti sieronegativi per HIV, ma a rischio di infezione, e la predilezione dimostrata da questa malattia per gli omosessuali maschi HIV-sieropositivi, hanno condotto a formulare l'ipotesi di un agente virale sessualmente trasmissibile distinto da HIV.

Una sequenza polinucleotidica assimilabile agli herpesvirus fu identificata nel 1994 in oltre il 90% dei campioni tissutali di SK ottenuti da pazienti con HIV (12). Il genoma in questione dimostrava somiglianza nei confronti di *Herpesvirus saimiri* e di EBV.

Il nuovo virus fu battezzato HHV-8. Lo stesso virus è reperibile nel SK classico e nel SK degli omosessuali HIV-sieronegativi. Inoltre, in pazienti con HIV, le stesse sequenze virali sono state identificate nei linfomi a cellule B delle cavità corporee (BCBL) detti anche linfomi delle effusioni primitive (PEL).

Parimenti, la malattia di Castleman multicentrica (MCD), disordine linfoproliferativo atipico con iperplasia linfoide generalizzata, è stata associata ad HHV-8.

La PCR dimostra il virus nel sangue di oltre il 50% dei pazienti con SK cutaneo. Inoltre, il reperto del virus nel sangue di pazienti esenti da lesioni cutanee consente di prevedere la probabile comparsa di SK.

Nel 1996 divenne possibile la propagazione del virus in coltura. La disponibilità di antigene virale ha reso possibili studi sieroepidemiologici. Questi hanno confermato un ruolo eziologico di HHV-8 nei confronti di SK (13, 14).

Bibliografia

1. Meissner C., Coffin JM, " *The human retroviruses: AIDS and other diseases* ", In: " *Mechanisms of microbial disease* ", third edition. Ed. by M. Schaecheter, NC Engleberg, BI Eisenstein, GM Medoff. Williams & Wilkins, p. 350-363, 1998.
2. Callard R., Gearing A., " *The Cytokine Facts Book* ", Academic Press, 1994.
3. Clapman PR, Weiss RA, " *The virus and its target cells* ", In: " *Textbook of AIDS Medicine* ", 2nd edition. Ed. by TC Merigan, JG Bartlett, D Bolognesi. Williams & Wilkins, pp. 13-21, 1999.
4. Imboden JB, " *T lymphocytes & natural killer cells* ", In: " *Medical Immunology* ", 9th edition. Ed. by DP Stites, AI Terr, Parslow TG. Appleton & Lange, pp. 131-145, 1997.
5. Stevenson M., " *Viral genes and their products* ", In: " *Textbook of AIDS Medicine* ", 2nd edition. Ed. by TC Merigan, JG Bartlett, D Bolognesi. Williams & Wilkins, pp. 23-48, 1999.
6. Mann DL, Garner RP, Dayhoff DE, Cao K., Fernandez-Vi-a MA, Davis C., Aronson N., Ruiz N., Bix DL, Michael NL, " *Major histocompatibility complex genotype is associated with disease progression and virus load levels in a cohort of human immunodeficiency virus type 1-infected Caucasians and African Americans* ", JID 178:1799-1802, 1998.
7. Dean M., Carrington M., Winkler C. et al., " *Genetic restriction of HIV-1 infection and progression to AIDS by a deletion allele of the CCR5 structural gene* ", Science 273:1856-1862, 1996.
8. Smith MW, Dean M., Carrington M. et al., " *Contrasting genetic influence of CCR2 and CCR5 variants on HIV-1 infections and disease progression* ", Science 277: 959-965, 1997.
9. Van Rij RP, de Roda Husman A-M, Brouwer M., Goudsmith J., Coutinho RA, Schuitemaker H., " *Role of CCR2 genotype in the clinical course of syncytium-inducing (SI) or non-SI human im-*

- immunodeficiency virus type 1 infection and in the time to conversion to SI virus variants* , JID 178: 1806-1811, 1998.
10. Vaddi K., Keller M., Newton RC, " *The chemokine facts book* " , Academic Press, 1997.
 11. Krakauer T., Vilcek J., Oppenheim JJ, " *Proinflammatory cytokines* " , In: " *Fundamental Immunology* " , 4th edition. Ed. by WE Paul. Lippincott-Raven, 1999.
 12. Chang Y., Cesarman E., Pessin MS et al., " *Identification of herpesvirus-like DNA sequences in AIDS-associated Kaposi's sarcoma* " , Science 265: 1865, 1994.
 13. Moore PS, Chang Y., " *Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus* " , In: " *Clinical Virology* " , Ed. by DD Richman, RJ Whitley, FG Hayden. Churchill Livingstone, pp. 509-524, 1997.
 14. Fauci AS, Lane HC, " *Human immunodeficiency virus (HIV) disease: AIDS and related disorders* " , In: " *Harrison's Principles of Internal Medicine* " , 14th edition. Ed. by AS Fauci, E Braunwald, KJ Isselbacher, JD Wilson, JB Martin, DL Kasper, SL Hauser, DL Longo. McGraw Hill, pp. 1791-1856, 1998.

HIV E AIDS: ORIGINE ED EVOLUZIONE DI UN'EPIDEMIA

*Giovanni Rezza, Pier Angela Napoli, Patrizia Martucci,
Barbara Suligoi, Patrizio Pezzotti*

Centro Operativo AIDS, Istituto Superiore di Sanità, Roma

2

L'epidemia di AIDS/HIV in Italia: note introduttive

Nel 1981 i Centers for Disease Control di Atlanta segnarono i primi "Cluster" epidemici di sarcoma di Kaposi e polmonite da *Pneumocystis carinii* negli Stati Uniti. Si trattava dell'identificazione dei primi casi di AIDS (che, come noto, rappresenta la fase terminale dell'infezione da HIV) e dell'inizio di un'epidemia globale che non avrebbe in seguito risparmiato alcun paese della nostra terra. In Italia, i primi sporadici casi di AIDS vennero diagnosticati nel 1982 in omosessuali che avevano soggiornato in altri Paesi, nei quali avevano probabilmente contratto l'infezione da HIV. In totale, alla fine del primo semestre del 1984, nel nostro Paese non si contavano più di dieci casi di AIDS. Nel secondo semestre dello stesso anno, a Milano, veniva diagnosticato il primo caso di AIDS in un tossicodipendente; quella data segnava l'inizio dell'ascesa della curva epidemica. Quindi l'incidenza di casi di AIDS aumentava rapidamente, svelando la drammatica realtà dell'ampia diffusione dell'infezione da HIV (sino ad allora ignorata per la mancata disponibilità di un test sierologico in grado di rilevarla) che si era verificata nei tossicodipendenti.

Nel corso degli anni l'AIDS è diventata, in Italia, la più importante causa di morte fra i giovani adulti di sesso maschile, ed una delle principali nelle giovani donne. Nei maschi di età compresa fra i 25 ed i 29 anni, a partire dalla metà degli anni ottanta, l'AIDS ha determinato un'inversione dell'andamento della mortalità generale, sino ad allora in costante diminuzione, influenzando un inaspettato incremento. Il recente e, per certi versi, inaspettato decremento dei nuovi casi di AIDS apre uno spiraglio per il futuro. Come però vedremo, sono ancora tanti i limiti delle nostre conoscenze e, per questo, occorre esser cauti circa le previsioni a medio e lungo termine sull'andamento dell'epidemia.

Come si monitorizza un'epidemia

Secondo quanto raccomandato dall'Organizzazione Mondiale della Sanità e della Comunità Europea, in Italia, come in altri Paesi, esistono centri adibiti al monitoraggio dell'andamento temporale dei casi di AIDS. I sistemi di sorveglianza dell'AIDS hanno permesso di valutare l'andamento del fenomeno in anni in cui non esistevano esami diagnostici in

grado di svelare la presenza dell'infezione da HIV. Dal momento che è ora nota la lunga durata del tempo di incubazione (meno del 50% delle persone infette sviluppa l'AIDS entro 10 anni dal momento della sieroconversione), appare chiaro che basare le stime delle dimensioni del fenomeno epidemico solamente sull'andamento temporale e geografico dei casi di AIDS possa essere alquanto riduttivo. È infatti intuitivo che sarebbe di estremo interesse conoscere non solo il numero e l'andamento dei casi di AIDS, ovverosia delle persone con infezione avanzata, ma anche il numero globale di persone infette ed ancora asintomatiche. Esistono quindi altri metodi che permettono di stimare le dimensioni globali e l'andamento dell'epidemia da HIV, che rappresentano un utile complemento ai sistemi di sorveglianza dell'AIDS. Gli approcci metodologici più utili a tal fine appartengono a tre categorie principali: i sistemi di sorveglianza delle nuove diagnosi di infezione da HIV, gli studi osservazionali ed i modelli matematici.

I sistemi di sorveglianza delle nuove diagnosi di infezione da HIV, pur non essendo in grado di identificare tutte le nuove infezioni, possono fornire informazioni più aggiornate sull'andamento dell'epidemia. Infatti, è presumibile che la maggior parte delle persone infette che ricorrono al test sierologico lo facciano ben prima di sviluppare i sintomi gravi che caratterizzano l'AIDS.

Gli studi osservazionali consistono principalmente in studi trasversali (in grado di fornire informazioni sulla prevalenza di infezione, ovverosia sulla percentuale di individui infetti in un determinato campione esaminato) e studi longitudinali (dai quali si ottengono invece informazioni sui tassi di incidenza di nuove infezioni). Gli studi di prevalenza sono maggiormente utilizzati, data la loro facilità di esecuzione, e vengono in genere ripetuti nel tempo al fine di identificare eventuali modifiche nell'andamento temporale dell'epidemia. Gli studi di incidenza, di più difficile esecuzione, sono stati sinora condotti soprattutto su tossicodipendenti e su altri gruppi di popolazione ad alta incidenza. Infatti, l'esecuzione di studi su popolazioni a bassa incidenza (es. popolazione generale) è limitata dalla necessità di studiare campioni di ampie dimensioni e dal conseguente sforzo economico ed organizzativo.

L'andamento dei casi di AIDS

In Italia, la raccolta dei dati sui casi di AIDS è iniziata nel 1982 e successivamente, nel giugno 1984, è stata formalizzata in un sistema di sorveglianza nazionale. A partire dal 1987 la notifica dei casi di AIDS è quindi divenuta obbligatoria (DM del 28/11/86), e l'AIDS rientra attualmente nell'ambito delle patologie infettive di Classe III (DM del 15/12/90), ovverosia a notifica speciale. Dal 1987, la raccolta dati viene effettuata dal Centro Operativo AIDS (COA) dell'Istituto Superiore di Sanità, in collaborazione con le Regioni. Il COA provvede ad analisi periodiche dei dati, ed alla pubblicazione e diffusione di un rapporto trimestrale sull'andamento dell'epidemia di AIDS in Italia.

Dall'inizio dell'epidemia al 31 dicembre 1998, in Italia sono stati notificati in totale oltre 43.420 casi di AIDS. La distribuzione temporale dei casi di AIDS può essere però influenzata dal ritardo di notifica, cioè dal tempo che intercorre dalla data della diagnosi del caso

al momento in cui la notifica perviene al COA. Per ovviare a questo problema si usa un metodo di correzione (messo a disposizione dal Centro Europeo di Sorveglianza Epidemiologia) che al 31/12/1998 stima un numero di casi di poco superiore ai 44.000. L'incidenza di casi di AIDS è andata aumentando nel corso degli anni sino al 1995; quindi è stata osservata una tendenza alla diminuzione. La Tab. 1 riporta il numero dei casi e dei deceduti per anno di diagnosi ed il relativo tasso di letalità. In totale, 30.318 (69.8%) pazienti risultano deceduti al 31/12/1998. Si sottolinea che il tasso di letalità registrato rappresenta una sottostima della letalità dal momento che la notifica di decesso, al contrario di quella dei casi di AIDS, non è obbligatoria. È inoltre noto che il tasso di letalità è funzione della data di diagnosi, e tende infatti al 100% per i casi diagnosticati nella prima metà degli anni '80.

Tab. 1: Distribuzione annuale dei casi di AIDS, dei casi corretti per ritardo di notifica, dei decessi, del tasso di letalità e dei casi prevalenti.

Anni	Casi diagnosticati	Casi corretti per ritardo di notifica	Morti per anno di decesso	Decessi per anno di diagnosi *	Tasso di letalità **	Casi prevalenti
1982	1	1	0	0	0.0	1
1983	8	8	2	7	87.5	7
1984	37	37	16	37	100.0	28
1985	198	198	89	186	93.9	137
1986	457	457	268	433	94.7	326
1987	1029	1029	563	963	93.6	792
1988	1773	1773	857	1642	92.6	1708
1989	2480	2480	1395	2300	92.7	2793
1990	3135	3135	1931	2878	91.8	3997
1991	3827	3827	2606	3486	91.1	5218
1992	4261	4261	3267	3789	88.9	6212
1993	4818	4818	3642	3930	81.6	7388
1994	5522	5533	4303	4206	76.2	8607
1995	5659	5706	4515	3432	60.6	9751
1996	4997	5086	4084	1979	39.6	10664
1997	3292	3416	2025	771	23.4	11931
1998	1926	2418	755	279	14.5	13102
Tot.	43.420	44.183	30.318	30.318	69.8	-----

(*) Il numero di decessi indica quanti dei pazienti, diagnosticati in uno specifico anno, risultano deceduti al 31.12.1998.

(**) Il tasso di letalità è calcolato come il rapporto tra i decessi per anno di diagnosi ed i casi diagnosticati nello stesso anno.

I dati relativi all'andamento dei casi di AIDS, anche se corretti per il ritardo della notifica, possono sottostimare, almeno in parte, le dimensioni del fenomeno, a causa della sotto-notifica. Di fatto, la sotto-notifica delle diagnosi di AIDS è un fenomeno presente in moltissime nazioni con stime che vanno da più del 99% dei casi per alcuni Paesi sottosviluppati fino a valori intorno all'1% in Paesi quali la Svezia. In Italia si ritiene che tale fenomeno si attesti intorno al 10% (il confronto dei dati del Registro AIDS con i decessi dell'ISTAT ha mostrato una sottostima di poco superiore al 5%).

La nuova definizione di caso, utilizzata a partire dall'inizio del 1993 non ha apportato una sostanziale modifica del trend, pur determinando un modesto e progressivo effetto di anticipazione della diagnosi di AIDS in un certo numero di persone infette. Le tre nuove patologie incluse nella definizione di caso del 1993-94 hanno contribuito per il 5% del totale delle diagnosi nel 1993-94 e per il 19.8% nel 1997-98.

Nell'ultimo decennio la proporzione di pazienti di sesso femminile tra i casi adulti è andata progressivamente aumentando, passando dal 16.0% del 1985 ad oltre il 23.6% nel 1998.

Fig. 1: Tasso di incidenza di AIDS per regione di residenza (per 100.000 abitanti) per i casi notificati tra Gennaio 1997 e Dicembre 1998



L'età mediana alla diagnosi di AIDS ha mostrato un aumento nel tempo, sia tra i maschi che tra le femmine. Infatti, nel 1985 l'età mediana era di 29 anni per i maschi e 24 anni per le femmine, passando nel 1998 rispettivamente a 37 e 34 anni. Nell'ambito del territorio nazionale si osservano ampie variazioni geografiche nell'incidenza di nuovi casi di AIDS (Fig. 1).

Le regioni del centro-nord (Lombardia, Lazio, Liguria, Emilia Romagna,) risultano mediamente più colpite. Nel sud, al contrario, anche regioni urbanizzate come la Campania presentano tassi di incidenza di AIDS relativamente bassi. L'estrema variabilità trova conferma anche a livello sub-regionale, dove si evidenzia una distribuzione dell'epidemia a "pelle di leopardo". Le grandi aree urbane ed i capoluoghi di regione risultano tendenzialmente più colpiti rispetto alle aree a configurazione prevalentemente rurale. Fattori locali (ad esempio, turismo, presenza di grandi porti, elevata industrializzazione, etc.) sembrano anche giocare un ruolo nel determinare un aumentato impatto dell'epidemia. Non a caso, negli ultimi 12 mesi, le cinque province col tasso di incidenza più elevato sono risultate Roma (8.8), Milano (8.4), Brescia (7.9), Rimini (7.6), Lodi (7.5), Grosseto (7.5) e Biella (6.3).

Per quanto riguarda la distribuzione per categoria di trasmissione (i cosiddetti "gruppi a rischio"), la maggior parte dei casi è attribuibile alla tossicodipendenza per via endovenosa. Nel corso del tempo la proporzione di casi attribuibile a ciascuna categoria è andata però leggermente cambiando. Ad esempio, i tossicodipendenti sono passati dal 66% del totale dei casi diagnosticati nel 1993 al 47.6% nel 1998, mentre i contatti eterosessuali sono passati, nello stesso periodo, dal 15.4% al 21.6%. Un aumento è stato registrato in pazienti con fattore di rischio "Altro/non determinato". Tale incremento è per lo più attribuibile alla maturazione dell'epidemia che comporta un aumento della trasmissione sessuale ed in particolare, l'acquisizione dell'infezione da persone che non sanno di essere infette o che non vengono più classificate come appartenenti ad un gruppo a rischio noto. È comunque da sottolineare che una parte dei casi con fattore di rischio "Altro/non determinato" a seguito delle indagini periodiche condotte dal COA viene riclassificata in una delle classiche categorie di rischio.

I casi pediatrici (età inferiore ai 13 anni) al 31 dicembre 1998 erano 666 (326 maschi e 340 femmine), la stragrande maggioranza dei quali aveva contratto l'infezione dalla madre durante la gravidanza (trasmissione verticale). Per quanto riguarda i restanti casi, il 4.6% dei maschi era affetto da disturbi della coagulazione, mentre circa il 2% del totale era attribuibile a somministrazioni di sangue infetto nel passato; infine, in una piccola quota di casi (circa l'1%) non erano evidenziabili fattori di rischio noti.

Sistemi di sorveglianza dell'infezione da HIV

Mentre tutti i Paesi hanno implementato sistemi di sorveglianza dell'AIDS, programmi orientati al monitoraggio delle infezioni da HIV basati sulle notifiche da parte dei laboratori sono stati sinora di rilevanza limitata. A causa della diminuzione dei casi di AIDS, attribuibile come vedremo, in gran parte all'affetto delle nuove terapie sulla durata del tempo di incubazione, si sta attualmente valutando, a livello internazionale, la possibilità

di introdurre sistemi di sorveglianza delle nuove diagnosi di infezione da HIV. Ciò permetterebbe infatti di disporre di informazioni sul numero minimo di infezioni che si verificano in un determinato ambito territoriale.

In Italia, solo alcune regioni (Lazio, Veneto, Umbria, Friuli Venezia Giulia) e due province (Modena e Trento) hanno da tempo sistemi di sorveglianza delle diagnosi di HIV. Il vantaggio di quest'approccio consiste nel rendere più breve l'intervallo di tempo che intercorre fra l'acquisizione dell'infezione e la notifica. Infatti, anziché attendere lo sviluppo dell'AIDS, la notifica scatta al momento del riscontro della sieropositività. Anche questo sistema non è però esente da limiti; in particolare, l'epoca dell'infezione non è nota per la maggior parte dei casi notificati, e la durata della latenza tra l'esposizione e la diagnosi può dipendere dalla facilità di accesso al test e può variare nel tempo se si modificano le condizioni che determinano la richiesta e/o l'offerta del test sierologico.

Dal confronto dei dati dei sistemi di sorveglianza dell'AIDS e quello delle diagnosi di infezione da HIV derivano utili informazioni sui cambiamenti relativi alle caratteristiche dell'epidemia. I sistemi di sorveglianza delle infezioni hanno permesso di evidenziare l'incrementato impatto dell'epidemia nella popolazione femminile: nel Veneto, la proporzione di nuove diagnosi di infezione effettuate in donne era del 26.4% nel 1988 ed è salito al 35% nel 1996. Tale osservazione è confermata anche dai dati del sistema di sorveglianza delle infezioni da HIV della regione Lazio.

Per quanto riguarda l'età, si conferma il "trend" osservato nei nuovi casi di AIDS. I dati dei sistemi di sorveglianza delle nuove diagnosi di infezioni da HIV mostrano che nel Lazio, ad esempio, diminuiscono le nuove diagnosi al di sotto dei 25 anni, mentre aumentano al di sopra dei 35 fino al 1994. Lo stesso fenomeno si è osservato nel Veneto, dove l'età media è salita negli uomini da 28 anni nel 1988 ad oltre 34 nel 1994, e nelle donne da poco meno di 27 a 32 anni.

Studi osservazionali su diversi gruppi di popolazione

1. TOSSICODIPENDENTI

L'HIV venne introdotto molto precocemente nei tossicodipendenti dell'area metropolitana di Milano e quindi in altre città italiane. Studi retrospettivi hanno evidenziato la presenza di anticorpi anti-HIV in sieri raccolti nel 1979 ed il successivo incremento della prevalenza di infezione da HIV verificatosi in particolare nella prima metà degli anni ottanta.

Nel 1990, la prevalenza di sieropositività, calcolata su circa 40.000 utenti dei Ser.T presenti sul territorio nazionale, era superiore al 30%, con ampie variazioni regionali. In particolare, si evidenziava un netto gradiente nord-sud, con prevalenze che raggiungevano o superavano il 40% in Liguria, Lombardia ed Emilia Romagna, e inferiori al 10% in Campania; nel Lazio, circa il 30% dei tossicodipendenti risultava sieropositivo. Gli stessi dati mostravano che i tossicodipendenti già in trattamento dagli anni precedenti avevano un rischio di infezione circa 3 volte superiore rispetto ai nuovi utenti (tossicodipendenti entrati in trattamento per la prima volta nell'anno in corso). La minore durata dell'esposizione ed

il cambio dei comportamenti potevano, almeno in parte, spiegare il declino della sieroprevalenza riscontrato nei nuovi utenti. Nel corso degli anni si è, quindi, osservata una tendenza al declino della prevalenza nei tossicodipendenti afferenti ai Ser.T, particolarmente sensibile nei nuovi entrati in trattamento.

Informazioni diverse da quelle fornite dalle indagini di prevalenza provengono da studi longitudinali eseguiti al fine di stimare l'incidenza di nuove infezioni in soggetti inizialmente sieronegativi. Diversi studi di questo tipo sono stati condotti al fine di valutare l'andamento dell'incidenza di nuove infezioni in tossicodipendenti residenti in città a prevalenza elevata (es. Milano), intermedia (es. Roma) e bassa (es. Napoli). Nell'area metropolitana di Milano l'incidenza annuale di nuove infezioni si aggirava sul 7% anni-persona nel 1987-89, e scendeva a poco più del 3% dopo il 1989. Uno studio condotto a Roma svelava un tasso di nuove infezioni pari al 9% anni-persona nel periodo 1985-87, che scendeva al 5% nel triennio 1987-89, ed al 4% nei due trienni successivi. A Napoli, l'incidenza rimaneva al disotto dell'1% durante tutto il periodo dello studio. Contemporaneamente, nelle stesse città si osservava dapprima una stabilizzazione e quindi un decremento della sieroprevalenza di HIV nei nuovi utenti. È probabile che la diminuzione della prevalenza sia la conseguenza di tassi di incidenza di sieroconversione relativamente bassi e di un eccesso di mortalità nei tossicodipendenti con infezione da HIV.

2. PAZIENTI AFFETTI DA MALATTIE SESSUALMENTE TRASMESSE (MST)

Monitorizzare la prevalenza dell'infezione da HIV in eterosessuali non tossicodipendenti affetti da MST di recente acquisizione è utile al fine di valutare l'andamento dell'epidemia in una popolazione sessualmente promiscua. In Italia esiste un sistema sentinella che si avvale della collaborazione di una rete composta da 47 centri pubblici per la diagnosi e cura delle MST ubicati in 19 regioni italiane. Fra le persone che hanno accettato di sottoporsi al test (circa il 70%) la prevalenza di anticorpi anti-HIV era globalmente dell'8.5%; escludendo gli omosessuali, si rilevava un 2.1% di infetti negli eterosessuali non tossicodipendenti che restava stabile negli anni fra il 1991 ed il 1996.

3. LA POPOLAZIONE GENERALE: STUDI SU DONNE GRAVIDE E NEONATI

Nella Regione Lazio è stato avviato un programma basato sulla ricerca di anticorpi anti-HIV in donne ricoverate per parto, interruzione volontaria di gravidanza (IVG) o aborto spontaneo in alcuni ospedali della regione. La prevalenza tendeva a scendere, fra il 1990 ed il 1991, mostrando poi una stabilizzazione negli anni successivi nelle donne che portavano a termine il parto. Nelle donne che si sottoponevano ad interruzione volontaria di gravidanza la prevalenza era di circa tre volte più elevata, e non variava in maniera significativa nel corso degli anni. In base a questi risultati si può ipotizzare che si sia verificata un'esclusione selettiva dalla gravidanza delle donne con infezione da HIV, piuttosto che un aumentato ricorso all'interruzione volontaria di gravidanza. Per quanto riguarda gli aborti

spontanei i risultati non si discostano significativamente da quelli relativi ai parti a termine. Nel complesso, la lieve tendenza alla diminuzione della prevalenza verificatasi negli anni passati potrebbe essere interpretata come la conseguenza di un'aumentata propensione a non intraprendere una gravidanza, piuttosto che come una reale diminuzione della prevalenza stessa.

Per quantizzare il numero di gravide a termine HIV sieropositive e stimare il numero di casi attesi di infezione da HIV in età pediatrica sono stati effettuati studi di prevalenza anonimi sul sangue dei neonati prelevato nella prima settimana di vita. In tale epoca, infatti, per il passaggio trans-placentare degli anticorpi materni, il risultato degli esami condotti sul sangue dei neonati corrisponde a quello ottenuto sul siero materno. Il programma di screening neonatale per l'individuazione di difetti metabolici ed ormonali permette la raccolta sistematica su carta da filtro di campioni di sangue dei neonati, che possono quindi essere utilizzati per l'esecuzione del test sierologico per HIV.

È ipotizzabile che gli studi condotti sui neonati di cui circa l'1% per mille risultava avere anticorpi materni diretti contro l'HIV, possano sottostimare la prevalenza di infezione da HIV nelle donne in età fertile; i dati sopra riportati suggeriscono infatti che la prevalenza di infezione da HIV nelle donne che ricorrono ad una interruzione volontaria di gravidanza è circa tre volte superiore a quella delle donne che portano a termine la gravidanza stessa.

Indagini sui comportamenti sessuali

Secondo i risultati di uno studio nazionale finanziato dal Progetto Ricerche AIDS su un campione di giovani di età compresa fra i 19-24 anni, l'età del primo rapporto sessuale è di 18 anni nei maschi e 19 nelle femmine, l'1.8% degli intervistati riferisce rapporti con tossicodipendenti, l'1.2% rapporti omosessuali, il 16% con prostitute. L'uso costante del profilattico con partner occasionali (74%) sembra essere piuttosto frequente. Altri studi, condotti su tossicodipendenti, mostrano che circa la metà dei tossicodipendenti di sesso maschile ha rapporti sessuali con donne non tossicodipendenti.

L'epidemia da HIV in Italia: stime e previsioni

Per la prima volta, dall'inizio dell'epidemia di AIDS, si è osservata nel 1996 una diminuzione importante del numero dei nuovi casi, che fa nascere la necessità di valutare i possibili fattori responsabili di questo cambiamento di tendenza. A questo proposito sono state eseguite ulteriori analisi, utilizzando sempre i casi corretti per ritardo di notifica.

La distribuzione temporale dei casi di AIDS evidenzia una diminuzione vicina al 30% dei casi tra il 1996 ed il 1997. La diminuzione si riscontra in tutte le principali categorie di esposizione, anche se risulta essere meno marcata per i casi a trasmissione eterosessuale. Tale decremento si è accentuato nel corso del 1997 e nel corso del 1998.

Tale diminuzione è spiegabile in gran parte con la crescente diffusione, soprattutto a partire dalla seconda metà del 1996, delle nuove combinazioni terapeutiche antiretrovirali,

che avrebbero provocato un allungamento del tempo di incubazione. Le limitate conoscenze sugli effetti a lungo termine che gli attuali trattamenti hanno sull'andamento dell'infezione da HIV non permettono però di escludere un'eventuale inversione dell'andamento della curva epidemica.

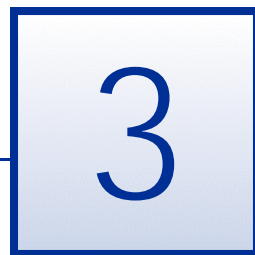
Conclusioni

L'impatto delle nuove terapie antiretrovirali sta modificando il corso della malattia da HIV, avendo come conseguenza un allungamento del tempo di incubazione e della sopravvivenza delle persone affette da AIDS. Il cambiamento dei comportamenti ha, inoltre, comportato una riduzione nel numero di nuove infezioni nei tossicodipendenti. L'infezione tende ora a diffondersi lentamente al di fuori dei classici gruppi ad elevata frequenza di comportamenti a rischio, comportandosi sempre più come una classica malattia a trasmissione sessuale. Purtroppo, le limitate informazioni disponibili in questa fase di transizione sulle modificazioni in corso nella storia naturale dell'infezione, rendono problematico lo studio delle dinamiche epidemiche.

Bibliografia

1. Centro Operativo AIDS, " *Aggiornamento dei casi di AIDS notificati in Italia al 30 giugno 1997* ", Notiziario dell'Istituto Superiore di Sanità 1997; vol.10, n. 9 (Suppl. 1).
2. Dianzani F., Ippolito G., Moroni M., " *AIDS 1998. Il contributo italiano* ", Piccin Editore, Padova 1998.
3. Musicco M., Lazzarin A., Gasparini M., " *Trasmissione eterosessuale HIV: conoscere per prevenire* ", Atti della " *Prima giornata italiana di studio sulla trasmissione eterosessuale dell'HIV* ". Milano, 1993.
4. Osservatorio Epidemiologico Regione Lazio, " *Sistema di sorveglianza e controllo dell'AIDS* ", Bollettino Epidemiologico Regionale 1996; n. 5.
5. Pezzotti P., Scalia Tomba G., Rezza G., " *Incidenza e prevalenza delle infezioni da HIV in Italia e previsioni a breve e medio termine* ", Consensus Conference, Roma, 23-24 giugno 1994. Rapporti ISTISAN 95/41.
6. Pezzotti P., Phillips AN., Dorrucci M. et al., " *Category of exposure to HIV and age in the progression to AIDS: longitudinal study of 1199 people with known dates of seroconversion* ", British Medical Journal, 1996; 313:583-586.
7. Rezza G., Lazzarin A., Angarano et al., " *The Natural History of HIV Infection in Intravenous Drug Users: Risk of Disease Progression in a Cohort of Seroconverters* ", AIDS 1989; 3: 87-90.
8. Rezza G., " *Regional variations in HIV seroprevalence among injecting drug users in Italy* ", Rev Epidemiol et Santé Publique 1990; 38: 263-264.
9. Rezza G., Nicolosi A., Zaccarelli M. et al., " *Understanding the dynamics of the HIV epidemic among Italian intravenous drug users: a cross-sectional versus a longitudinal approach* ", Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes 1994; 7:500-503.
10. Suligoi B., Giuliani M., " *Le malattie sessualmente trasmesse in Italia: andamento stabile negli ultimi 6 anni* ", Dermotime 1997; 4: I-IV.

DIAGNOSI DI LABORATORIO DELL'INFEZIONE DA HIV E FOLLOW-UP DEL SOGGETTO ESPOSTO AL VIRUS



Stefano Buttò, Antonella Tripiciano

Laboratorio di Virologia, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Diagnosi di laboratorio dell'infezione da HIV

La diagnosi di laboratorio dell'infezione da HIV si basa comunemente sulla ricerca di anticorpi specifici verso gli antigeni virali nel sangue. La presenza di tali anticorpi viene definita *sieropositività* per HIV. Nelle fasi iniziali dell'infezione (infezione acuta o primaria) si verifica un'intensa viremia (la presenza di virus nel sangue), che raggiunge il suo picco fra la seconda e la terza settimana dall'infezione. Contemporaneamente, inizia ad attivarsi un'intensa e specifica risposta immunitaria anti-HIV, sia anticorpale che cellulo-mediata, la quale, nel giro di uno-tre mesi, è in grado di diminuire sensibilmente o azzerare la viremia. La comparsa di anticorpi specifici (*sieroconversione*) può realizzarsi già a distanza di alcuni giorni dall'infezione; tuttavia, affinché gli anticorpi siano dimostrabili nel siero con i test sierologici di screening attualmente in commercio è necessario attendere da 1-2 settimane a 6 mesi dal contagio. In alcuni casi riportati in letteratura è stata descritta la comparsa di anticorpi specifici anti-HIV anche dopo 6 mesi, ma si tratta di casi estremamente rari. Questo periodo, che va dal momento del contagio al momento in cui è possibile rilevare la presenza di anticorpi specifici, viene definito *periodo finestra*. Immediatamente dopo l'avvenuto contagio, durante il periodo finestra e per tutto l'arco della malattia il soggetto infetto è in grado di trasmettere il virus. È pertanto di estrema importanza, mettere a punto dei sistemi diagnostici che evidenzino il più precocemente possibile la presenza di infezione da HIV. Come detto precedentemente, la diagnosi di laboratorio di infezione da HIV si basa essenzialmente sull'esecuzione di *saggi sierologici* che mettono in evidenza gli anticorpi specifici per il virus. Tuttavia, in casi particolari, possono essere eseguiti *saggi virologici* che identificano direttamente il virus. Per quanto riguarda i test sierologici, in questo contesto verranno trattati i più comuni (Elisa e Western Blot) e verrà soprattutto discussa l'interpretazione dei risultati che derivano dalla loro esecuzione, poiché la gran parte della diagnostica di routine, nell'individuo adulto, si effettua sulla base di tali saggi.

Saggi sierologici

Nella maggior parte dei laboratori, la diagnosi sierologica dell'infezione da HIV comporta dapprima l'esecuzione di *saggi di screening*, i quali forniscono un'indicazione di un cam-

pione positivo per gli anticorpi verso l'HIV e, successivamente, a conferma di questa reattività, di *saggi supplementari o di conferma*.

Dalla scoperta dell'HIV come agente eziologico della sindrome da immunodeficienza acquisita lo sviluppo dei saggi sierologici di screening è andato rapidamente progredendo. I primi saggi ad essere utilizzati sono stati i saggi Elisa (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*). Tali test sono a tutt'oggi i più utilizzati e i più affidabili nella diagnostica di screening di infezione da HIV. Essi si prestano particolarmente per un impiego su un numero elevato di campioni e vengono utilizzati come saggi iniziali dai quali ottenere un'indicazione sulla presenza di anticorpi specifici verso l'HIV e per indirizzare, pertanto, verso una corretta diagnosi di infezione da HIV. I più comuni saggi Elisa sono di tipo indiretto (Fig. 1A). Essi sono basati su antigeni virali (sia dell'HIV-1 che dell'HIV-2, due virus distinti, ma correlati, che causano immunodeficienza nell'uomo) legati su una fase solida. Un eventuale legame tra gli anticorpi presenti nel siero e l'antigene (o gli antigeni) di HIV presente in fase solida viene messo in evidenza tramite la reazione con un secondo anticorpo diretto verso l'anticorpo specifico presente nel siero. Questo secondo anticorpo è detto "coniugato" poiché porta associata covalentemente una molecola enzimatica la cui attività viene rivelata successivamente introducendo l'adeguato substrato. La reazione colorimetrica che si sviluppa (misurata in "Densità Ottica", O.D) dipende dalla quantità di anticorpi nel siero dell'individuo che si sono legati all'antigene ed è, pertanto, indicativa della presenza (e della quantità) degli anticorpi anti-HIV in quell'individuo. In uno sforzo per migliorare la sensibilità e la specificità del saggio Elisa sono stati introdotti test a "sandwich" (Fig. 1B), in cui l'antigene (o una miscela di antigeni) legato in fase solida viene eventualmente riconosciuto da anticorpi specifici presenti nel siero.

Gli anticorpi che riconoscono l'antigene in fase solida sono anche in grado di riconoscere lo stesso antigene (o miscela di antigeni), aggiunto successivamente e coniugato con un enzima. Infine, l'aggiunta dell'adeguato substrato per quell'enzima produrrà una reazione colorimetrica che indicherà la presenza degli anticorpi anti-HIV. Questa tecnica presenta il vantaggio di una maggiore sensibilità in quanto, in via teorica, l'utilizzo di un antigene come coniugato permetterebbe di identificare più classi di immunoglobuline, incluse probabilmente le IgM, le quali essendo le prime ad essere prodotte in risposta all'infezione primaria, permetterebbero al test di risultare più sensibile e di ridurre il periodo finestra.

La procedura descritta permette di effettuare il test contemporaneamente su un gran numero di soggetti. La maggioranza dei saggi Elisa può essere effettuata su piastre di microtitolazione, con le quali si possono eseguire contemporaneamente 96 determinazioni. I saggi di screening possiedono una sensibilità elevata, che talvolta porta alla possibilità di ottenere dei risultati di falsa positività. In accordo con il loro ruolo di screening non è sorprendente che i saggi Elisa siano stati disegnati per ottimizzare la sensibilità a spese della specificità. Infatti, poiché tali saggi vengono ampiamente utilizzati nello screening delle donazioni di sangue, è fondamentale e necessario che abbiano un'elevata sensibilità. La possibilità dell'emergenza di alcuni casi di falsa reattività è ampiamente compensata dalla aumentata sicurezza dello screening delle donazioni di sangue. Pertanto, per la diagnosi di infezione da HIV per il singolo individuo, al di fuori del contesto delle donazioni di sangue, il saggio Elisa non è sufficiente, ma deve essere accompagnato dall'esecuzione di

saggi di conferma, tra i quali il più utilizzato è il Western Blot (abbreviato = WB) che presenta la caratteristica di una maggiore specificità (vedi successivamente). Inoltre il valore predittivo del saggio Elisa, può fluttuare ampiamente a seconda della categoria a rischio in cui è classificabile l'individuo per il quale si esegue la diagnosi. Per esempio, se il soggetto appartiene ad una popolazione a basso rischio, cioè senza comportamenti a rischio di infezione accertati, una reattività al saggio Elisa è, con ogni probabilità, aspecifica. Al contrario, la presenza di una reattività del saggio Elisa in un individuo con comportamenti ad alto rischio di infezione (scambio di aghi infetti, rapporti promiscui e non protetti, incidenti accertati con materiale potenzialmente infetto, ecc.) è più fortemente indicativa della presenza di infezione da HIV.

Le cause di falsa positività nei saggi Elisa, oltre agli errori tecnici di esecuzione del test (scambi di provette, contaminazione del campione con campioni positivi, ecc.) possono essere di varia natura. La più comune causa di falsa reattività è la presenza di anticorpi verso antigeni leucocitari (HLA-DR ed altri antigeni di classe II) nei sieri di alcuni pazienti. Questi anticorpi riconoscono probabilmente contaminanti cellulari nei lisati virali utilizzati in alcuni test Elisa, specialmente in quei test, detti di "prima generazione", che ancora fanno uso di una formulazione basata su lisati virali purificati, che possiedono un'elevata sensibilità, ma una specificità più bassa rispetto ai test di generazioni successive. Altre cause di falsa reattività che possono essere identificate includono: la presenza di anticorpi anti-nucleo e anti-mitocondrio, l'inattivazione al calore dei sieri prima dell'esecuzione del test, ripetuti cicli di scongelamento e congelamento, alcune malattie epatiche, recenti vaccinazioni (specialmente il vaccino anti-influenzale) ed alcuni tumori. Inoltre, la somministrazione di immunoglobuline può portare a casi di falsa reattività per la presenza di anticorpi specifici verso l'HIV nella preparazione somministrata. È bene ricordare che, in quest'ultimo caso, la sieropositività è transitoria e che non deriva dall'infezione con un antigene presente in queste preparazioni, poiché esse vengono opportunamente trattate per inattivare il virus HIV o virus dell'epatite eventualmente presenti. Tali preparazioni, pertanto, non trasmettono un antigene in grado di infettare.

Risultati falsi negativi nei saggi Elisa sono molto più rari e possono aver origine per un trattamento improprio dei reagenti inclusi nel kit. Altre cause possono essere l'esecuzione del test durante il periodo finestra (cioè prima della sieroconversione) e la presenza di condizioni di immunodisfunzione, come, per esempio, una severa ipogammaglobulinemia. Comunque, data l'alta sensibilità dei saggi Elisa attualmente in commercio, un test negativo dopo un appropriato intervallo di tempo da un'eventuale esposizione al virus è fortemente indicativo di assenza di infezione da HIV nella maggior parte dei casi. Pertanto, normalmente non c'è alcuna ragione che un soggetto con un test Elisa negativo debba essere immediatamente sottoposto ad un nuovo test. Tuttavia, se l'intervallo di tempo intercorso dall'esposizione presunta al virus all'esecuzione del test è stato relativamente breve (qualche giorno o 2-3 settimane), può essere consigliabile ripetere il test su un nuovo campione di siero dopo alcuni mesi (2-3 mesi) dal saggio iniziale.

A causa della possibilità di false reazioni positive, il test Elisa non è sufficiente per una diagnosi corretta di infezione da HIV. Essenziale per la diagnosi di positività sierologica è che un risultato ripetutamente positivo al test di screening sia successivamente confermato ad

un test supplementare o di conferma. Il saggio più rappresentativo di questo tipo di test, ed il più utilizzato, è il Western Blot (WB). Un WB convenzionale per l'HIV è costituito da una preparazione purificata di un lisato virale di HIV-1 (e da una proteina ricombinante di HIV-2) separata in base al peso molecolare nelle singole proteine virali attraverso elettroforesi su gel e quindi trasferita su un foglio di nitrato di cellulosa. Il foglio è poi tagliato in strette strisce su ognuna delle quali si può effettuare il test. I sieri vengono fatti reagire con le proteine virali separate presenti sulla striscia, che rappresenta la fase solida, in modo analogo alla procedura standard di un saggio Elisa indiretto. Si aggiunge, successivamente, un anticorpo secondario diretto verso le immunoglobuline umane e coniugato ad un enzima. L'aggiunta di un appropriato substrato produrrà una reazione colorimetrica che risulterà nella messa in evidenza di alcune bande sulla striscia, corrispondenti alle proteine virali separate, che sono state riconosciute dagli anticorpi specifici. Poiché il test rivela verso quale proteina virale sono diretti gli anticorpi, esso risulta più specifico di un test Elisa, che può dare solamente un'indicazione di reattività verso antigeni virali (non escludendo reattività aspecifiche). Pertanto, il WB viene utilizzato per valutare la specificità di una reazione positiva in Elisa.

Se usato per confermare una reattività del siero di un soggetto infettato da HIV, riscontrata nel saggio Elisa, il WB generalmente rivela tutte le proteine virali (delle regioni del *gag*, *pol* e *env*) (Fig. 2, controllo positivo [PC]). Le proteine evidenziabili più comunemente in una striscia completamente reattiva sono le seguenti: p55, p39, p24 e p17 codificate dalla regione genomica *gag*; p66, p51 e p31, codificate dalla regione genomica *pol*; gp160, gp120 e gp41, codificate dalla regione genomica *env*. Inoltre, alcuni kit commerciali includono una banda relativa alla proteina gp36 della regione *env* di HIV-2. Un individuo infettato da HIV-2 o doppiamente infettato da HIV-1 e HIV-2, presenterà reattività a questa banda, mentre un individuo infettato solo da HIV-1 non presenterà reattività alla gp36. Poiché in Italia l'infezione da HIV-2 non è diffusa, la probabilità di diagnosticare un'infezione da HIV-2 è estremamente bassa. Il pattern di reattività può variare da individuo ad individuo, così come può variare l'intensità delle bande, che è una misura indiretta della quantità di anticorpi verso la singola proteina. La corretta interpretazione dei risultati di un saggio WB è alla base di una corretta diagnosi di infezione da HIV. La definizione di quali bande dovrebbero essere indicative di vera infezione da HIV è stata, ed è ancora, oggetto di controversia tra i differenti ricercatori. Fino a qualche tempo fa si riteneva che la presenza di anticorpi verso una qualsiasi proteina dell'*env*, accompagnata dalla reattività contemporanea verso almeno una proteina del *gag* e del *pol*, fosse un requisito minimo per la sieropositività in WB.

Più recentemente, comunque, si sono generate evidenze sempre più convincenti che indicano che la presenza di anticorpi verso proteine appartenenti a solo due delle regioni virali principali è sufficiente per diagnosticare una sieropositività per HIV. Attualmente, i criteri di sieropositività sono pertanto quelli adottati nel 1989 dai Centers for Disease Control (CDC), in base ai quali un WB viene considerato "positivo" se contiene almeno due delle tre bande corrispondenti alle proteine p24, gp41 e gp160/120, "negativo" se non presenta alcuna reattività ed "indeterminato" se non soddisfa le condizioni minime di reattività, ma sono presenti bande, sia specifiche per HIV che aspecifiche. Inoltre, un WB con

reattività alla banda gp36 di HIV-2 viene comunque considerato positivo per la presenza di tale virus.

Come nel caso dell'Elisa, il valore predittivo di un risultato indeterminato varia a seconda della categoria a rischio del soggetto. Per esempio, in un soggetto con nessun fattore di rischio accertato, un risultato indeterminato generalmente non indica presenza di infezione da HIV. Al contrario, in un soggetto a rischio (per esempio una possibile recente esposizione all'HIV) un risultato indeterminato potrebbe essere indicativo di una sieroconversione. Si veda, a questo proposito, l'esempio riportato in Fig. 2, dove il WB diventa man mano sempre più reattivo in differenti prelievi nel tempo in un soggetto in fase di sieroconversione. Nella pratica comune, se il soggetto con WB indeterminato ricade in categorie a basso rischio, è estremamente probabile che i prelievi nei mesi successivi presentino la stessa reattività indeterminata. Pertanto, se non si osservano evoluzioni del pattern delle proteine nel tempo verso la sieropositività, il soggetto è da ritenersi non infetto da HIV. Tuttavia il tempo necessario alla diagnosi finale può essere per alcuni individui troppo lungo, specialmente per i soggetti ansiosi. In questo caso si può ricorrere alla ricerca diretta dell'antigene tramite la *reazione a catena della polimerasi (PCR)*. Comunque, normalmente, la diagnosi di laboratorio di infezione da HIV segue un ben determinato algoritmo. Quello riportato in Fig. 3 è un esempio di procedura diagnostica comunemente seguita in Italia per l'accertamento di un'infezione da HIV.

Saggi virologici

La diagnosi di laboratorio di infezione da HIV nell'individuo adulto non prevede, normalmente, l'esecuzione di saggi virologici. È ovvio che la migliore conferma di infezione da HIV sarebbe la dimostrazione della presenza del virus o di sue componenti antigeniche o genomiche; tuttavia, i saggi che mettono in evidenza il virus sono spesso di difficile esecuzione e non sempre la mancanza della dimostrazione dell'esistenza del virus è sinonimo di assenza di infezione da HIV. I più comuni saggi virologici sono l'isolamento virale, la determinazione del maggiore antigene di HIV-1 (saggio della presenza della p24 nel plasma) e la rilevazione di DNA virale nelle cellule del sangue periferico o di RNA virale nel plasma. Nel caso dell'isolamento virale, questa procedura richiede personale specializzato e particolari attrezzature che prevengano l'esecutore del test da possibili contaminazioni accidentali. Inoltre è un'indagine lunga, costosa e molto difficile da standardizzare. Pertanto questo saggio non si presta abitualmente alla diagnosi di infezione da HIV.

La determinazione della p24 nel plasma (antigenemia plasmatica) è una procedura ampiamente utilizzata, della quale esistono molte versioni commerciali. Il test si basa sullo stesso principio di un saggio Elisa. Sul fondo di ogni pozzetto di una piastra a 96 pozzetti è legato covalentemente un anticorpo monoclonale verso l'antigene p24. L'aggiunta del plasma dell'individuo determina una reazione tra la p24 virale presente nel plasma (nel caso che l'individuo sia infettato da HIV) e l'anticorpo monoclonale. Si aggiunge in seguito un anticorpo monoclonale anti-p24, coniugato ad un enzima. Il legame tra questo coniugato e la p24 legata all'anticorpo monoclonale in fase solida è messo in evidenza da

una reazione colorimetrica appropriata per l'enzima legato al coniugato. Come il saggio Elisa per la presenza di anticorpi specifici, il saggio della p24 può essere quantitativo, sfruttando l'intensità della colorazione che si sviluppa, che è direttamente proporzionale alla presenza di p24 nel plasma. L'antigene p24 può essere identificato nel plasma dei soggetti infetti durante le prime fasi dell'infezione, prima della comparsa degli anticorpi specifici. Di solito non è più identificabile durante la fase asintomatica e si rende di nuovo manifesto nelle fasi finali della malattia. L'utilità di questo saggio nella diagnosi di infezione da HIV è pertanto limitata dalla presenza intermittente di p24 nel plasma, riflesso diretto delle oscillazioni della carica virale nelle diverse fasi della malattia o della sensibilità a differenti terapie antiretrovirali. Esso trova un'applicazione limitata come saggio ausiliario per confermare l'esito di indagini sierologiche durante il periodo di sieroconversione. Inoltre, in associazione con i saggi che determinano la presenza di acido nucleico virale nelle cellule o nel plasma, può essere utile per diagnosticare la presenza di virus in neonati nati da madre sieropositiva. Comunque, la sua migliore applicazione è nel monitoraggio dell'evoluzione della malattia nel soggetto infetto, sia trattato con farmaci che non trattato. Infatti, un aumento sostanziale del livello di p24 nel siero è considerato un indice prognostico sfavorevole.

La PCR (reazione a catena della polimerasi) è una tecnica di amplificazione *in vitro*, che consente la sintesi esponenziale di un frammento di DNA. Scegliendo opportune condizioni, una regione del DNA virale (di solito nel gene *gag*) nelle cellule infette può essere amplificata enormemente ed in modo specifico a partire da un numero molto piccolo di molecole ed essere messa in evidenza con metodiche di rilevazione piuttosto semplici ed ormai completamente standardizzate. La PCR-DNA si è rivelata un saggio estremamente sensibile. È stato infatti stimato che con questa tecnica è possibile evidenziare una singola copia di DNA virale in una singola cellula infetta tra 1×10^6 cellule non infette. Tuttavia, numerosi studi hanno dimostrato che la PCR-DNA non è più sensibile dei normali saggi sierologici Elisa nella diagnosi di infezione da HIV durante la sieroconversione. Pertanto questo saggio viene utilizzato come controllo ausiliario per risolvere i problemi diagnostici in soggetti con WB indeterminato o per fornire ulteriori indicazioni, accanto ai risultati della sierologia nella diagnosi di infezione da HIV nel soggetto sieronegativo in sieroconversione. Comunque la PCR-DNA trova una formidabile applicazione nella diagnosi di infezione da HIV nel neonato da madre sieropositiva.

Questa diagnosi presenta maggiori complicazioni rispetto all'adulto dovute, oltre alla mancanza di una specifica sintomatologia, alla presenza di anticorpi IgG della madre nel bambino nei primi mesi dalla nascita. Gli anticorpi materni persistono per un periodo medio di 6 mesi, ma non sono rari i casi in cui si possono evidenziare fino ai 18 mesi e non indicano necessariamente la presenza di un'infezione da HIV nel neonato, ma conferiscono, comunque, sieropositività. Da una madre sieropositiva in trattamento con farmaci antiretrovirali, specialmente quelli di ultima generazione (inibitori delle proteasi somministrati singolarmente o in combinazione con altri farmaci) la probabilità che nasca un bambino infettato da HIV è relativamente bassa (minore del 10%). Tuttavia è necessario conoscere tempestivamente se il bambino è infetto per iniziare eventuali terapie. La presenza degli anticorpi materni rende impossibile l'indagine sierologica e, pertanto, solo l'identificazione

diretta dell'antigene (isolamento virale o determinazione della p24) o del genoma virale (PCR a DNA sulle cellule del neonato o a RNA sul plasma) permette di diagnosticare un'eventuale infezione da HIV. Tra questi saggi, la PCR a DNA sulle cellule del sangue si è dimostrata la più efficace. Essa infatti ha un'elevata sensibilità (>95%) e specificità (>95%) nei bambini con più di un mese di vita, mentre presenta una scarsa applicabilità nei bambini con età inferiore al mese, probabilmente a causa del basso numero di cellule del sangue infette presente durante i primi giorni di vita.

Uno dei saggi virologici più ampiamente utilizzato negli ultimi tempi è la determinazione quantitativa dell'RNA virale nel plasma. Le particelle virali presenti nel plasma sono ultracentrifugate per farle sedimentare sul fondo della provetta. Successivamente si elimina il supernatante e si lisa con opportuni detergenti il pellet di virioni. Si estrae, quindi, l'RNA virale, che viene trascritto *in vitro* in DNA. Utilizzando, infine, tecniche di amplificazione genica il DNA viene amplificato ed evidenziato con metodiche standard. La presenza di DNA è direttamente proporzionale alla quantità di RNA, a sua volta dipendente dal numero di virioni presenti nel campione di plasma. Sebbene questo metodo sia altamente sensibile e formulato recentemente, in preparazioni commerciali con procedure standardizzate, il suo utilizzo in diagnostica risulta limitato alla diagnosi di infezione da HIV nel neonato da madre sieropositiva. La determinazione dell'RNA plasmatico trova, invece, maggiori applicazioni nel monitoraggio dell'evoluzione della malattia in pazienti in trattamento con farmaci antiretrovirali.

Follow-up dopo l'esposizione al virus: durata e counselling

È necessario fornire all'individuo che riporta di aver avuto un comportamento che potrebbe essere stato causa di un potenziale contatto con il virus HIV una risposta adeguata, sia in termini di rischio di sieroconversione, che di profilassi terapeutica per ridurre le probabilità di infezione. Inoltre è necessario dare informazioni chiare riguardanti le procedure di controllo del proprio status sierologico da eseguire per un certo tempo, allo scopo di verificare la presenza o l'assenza di anticorpi anti-HIV.

Le risposte che possono essere fornite dipendono dalla tipologia dell'individuo e dalle modalità del possibile contatto che vengono riportate.

I CDC identificano, a tale scopo, le esposizioni "occupazionali", che riguardano il personale medico paramedico e di laboratorio che è a contatto con pazienti o materiale potenzialmente infettati da HIV, e le esposizioni "non occupazionali", che si riferiscono a comportamenti a rischio come lo scambio di aghi potenzialmente infetti o i rapporti sessuali non protetti con persone HIV-positive o a rischio di infezione da HIV.

ESPOSIZIONI OCCUPAZIONALI

Studi prospettici hanno stimato che il rischio medio di trasmissione di infezione da HIV dopo un'esposizione occupazionale percutanea con sangue infetto si aggira intorno allo

0,3%, mentre il rischio medio in seguito ad esposizione delle mucose è dello 0,09%. Anche se sono stati documentati episodi di trasmissione dell'infezione da HIV dopo esposizione della cute integra, il rischio medio di trasmissione tramite questa via non è stato stimato.

Studi epidemiologici e di laboratorio suggeriscono che un insieme di fattori influenza il rischio di trasmissione dell'infezione dopo esposizione occupazionale. Esso dipende dalla quantità di sangue infetto con cui si viene in contatto, dal tipo di manovra errata compiuta e dall'entità dell'eventuale ferita procurata. In questi casi gli studi hanno indicato che maggiore è la quantità di sangue infetto, maggiore è il rischio di infezione. Inoltre, a parità di volume di sangue, il rischio incrementa a seconda dello stato della malattia del soggetto infetto, da cui proviene il sangue. Ciò è un riflesso diretto della differente quantità di virus presente nel sangue e del tipo di variante virale ospitata dal paziente HIV-positivo. A tale proposito è stata avanzata la proposta di eseguire in questi casi, quando possibile, una stima del carico virale presente nel sangue contaminante tramite test virologici che misurino il carico virale (per esempio PCR-RNA). Tuttavia, questi test danno un'indicazione della quantità di virus libero nel sangue periferico e non di quello eventualmente associato alle cellule, né di quello presente in altri compartimenti, come, per esempio, il tessuto linfatico. Infine, anche se una più bassa carica virale indica una più bassa probabilità di infezione, non è mai possibile escludere completamente né quantizzare questa probabilità.

I dati in letteratura riguardanti il tempo e le caratteristiche di sieroconversione negli individui con esposizioni occupazionali sono limitati dalla bassa frequenza di casi riportata. Un recente studio su 51 individui sieroconvertiti in seguito ad esposizione occupazionale ha riportato che la mediana del tempo di sieroconversione in era di 46 giorni; a 6 mesi il 95% degli individui era sieroconvertito, e entro 12 mesi era stato riportato il 100% delle sieroconversioni.

L'uso di farmaci antiretrovirali, specialmente quelli dell'ultima generazione, ha contribuito ad allungare notevolmente il tempo di comparsa dei sintomi nell'individuo sieropositivo. Ciò è dovuto alla capacità che hanno questi farmaci di ridurre drasticamente la carica virale. Studi sugli animali hanno riportato che la profilassi con farmaci antiretrovirali, sia prima che dopo l'esposizione ad un virus challenge, è efficace nel sopprimere o nel ritardare la viremia o nel prevenire l'infezione. Anche nell'uomo è stata dimostrata l'efficacia della terapia con farmaci antiretrovirali in caso di esposizioni occupazionali. In particolare, in uno studio caso-controllo retrospettivo si è dimostrato che la terapia immediata con AZT negli individui esposti ha ridotto dell'81% il rischio di infezione. Ovviamente, l'efficacia della terapia è inversamente proporzionale al volume di sangue potenzialmente infetto con il quale l'individuo è venuto a contatto e alla tempestività (possibilmente entro 2 ore dall'esposizione) con la quale essa si inizia. Studi sugli animali hanno dimostrato che la profilassi terapeutica non è più efficace se iniziata 24-36 ore dopo l'esposizione. Tuttavia, nell'uomo non ci sono dati sufficienti a stabilire quando una terapia possa essere considerata inefficace. Per questi motivi si consiglia, se possibile, di iniziare una terapia anche dopo 36 ore dall'esposizione.

In base ai dati sopra riportati risulta fondamentale fornire all'individuo, che ha subito un'e-

sposizione occupazionale a materiale potenzialmente infetto, adeguate indicazioni delle procedure da seguire che da una parte tendano a limitare il rischio di infezione e dall'altra controllino la risposta anticorpale agli antigeni di HIV nel tempo. Pertanto i CDC hanno stabilito un algoritmo al quale fare riferimento, che stabilisce le modalità del trattamento e i tempi e le procedure per il monitoraggio della risposta anticorpale agli antigeni dell'HIV nel soggetto esposto. A tale proposito si faccia riferimento al bollettino MMWR, vol. 47, No RR-7 del 15 Maggio 1998 e alle figure 4 e 5 di questo articolo. I regimi di trattamento consigliati sono due: un "regime base", composto da 4 settimane di AZT, 600 mg al giorno in due o tre dosi, e di Lamivudina 150 mg per due volte al giorno, ed un "regime allargato", composto dal regime base più Indinavir, 800 mg ogni otto ore, o Nelfinavir, 750 mg tre volte al giorno.

In primo luogo, quando una persona riporta di essere venuta a contatto con materiale potenzialmente infetto, si deve determinare il rischio di infezione. Un'esposizione a sangue o ad altri fluidi corporei potenzialmente infettanti tramite puntura d'ago o contatto con le mucose (per esempio gli occhi) costituisce una situazione che pone un rischio reale di trasmissione dell'HIV. Per le esposizioni della cute, un rischio di infezione esiste solo se questa presenta delle ferite, abrasioni o irritazioni. Il contatto di materiale potenzialmente infetto con la cute integra normalmente non costituisce un pericolo di infezione. Fa comunque eccezione ogni materiale che può contenere un'enorme quantità di virioni infettanti, come per esempio virus concentrato. In questo caso ogni contatto con questo tipo di materiale deve considerarsi potenzialmente in grado di trasmettere l'infezione. Questi casi riguardano soprattutto il personale che lavora nei laboratori di ricerca o di produzione di HIV per scopi commerciali.

In secondo luogo, si dovrebbe verificare, laddove possibile, se la persona dalla quale deriva il sangue o altro fluido con cui si è contagiato l'individuo esposto, sia infettata o meno da HIV. In alcuni casi esiste già per quella persona una diagnosi clinica di infezione da HIV. In altri casi potrebbero essere necessari esami di laboratorio, sia sul sangue o fluido contaminante, nel caso che non si riesca a risalire alla sua fonte, sia sul sangue della persona, se questa è rintracciabile. Se si conosce già che la fonte è infetta con HIV si dovrebbe, a seconda delle possibilità, valutare lo stadio di infezione, tramite diagnosi clinica e determinazione della carica virale plasmatica. Se si sa con certezza che la fonte non è infettata con HIV, non è necessaria alcuna terapia specifica ed il soggetto esposto si deve ritenere non a rischio di infezione da HIV. Un'ovvia eccezione è se la fonte è un individuo che non presenta reattività sierologica verso HIV, ma appartiene ad una categoria a rischio ed ha recentemente avuto dei comportamenti a rischio di infezione da HIV. In questo caso è consigliabile iniziare comunque la terapia nell'individuo esposto. In tutti gli altri casi (fonte infetta o stato di infezione sconosciuto), se ci sono le condizioni che richiedono l'inizio di una terapia, si dovrà iniziare tempestivamente (entro poche ore dal presunto contagio) un adeguato trattamento. Una particolare attenzione deve essere riservata alla donna in gravidanza che riporta di aver avuto un contatto con del materiale potenzialmente infetto. Infatti, a causa della tossicità dei farmaci antiretrovirali, il trattamento di una donna in gravidanza deve essere valutato caso per caso, calcolando in modo accurato le probabilità di infezione, anche se la tendenza è quella di sottoporre ugualmente il soggetto alla tera-

pia preventiva. In tutti i casi la donna dovrà essere adeguatamente informata dei potenziali benefici e rischi associati all'uso di agenti antiretrovirali.

In terzo luogo, si dovrà stabilire lo status sierologico per gli anticorpi anti-HIV dell'individuo esposto, tramite saggio Elisa. È infatti necessario stabilire la sieronegatività dell'individuo al momento della contaminazione anche per gli eventuali scopi previdenziali previsti dalla legge o assicurativi. Le raccomandazioni dei CDC per il follow-up dello stato sierologico dell'individuo esposto indicano di eseguire nuovi saggi sierologici (Elisa ed eventualmente WB) a 6 settimane, a 3 mesi e a 6 mesi dal presunto contagio. Se permane la sieronegatività a 6 mesi, l'individuo esposto ha la quasi certezza di non essere stato infettato con HIV. Tuttavia, sono stati descritti casi aneddotici di comparsa degli anticorpi anti-HIV anche dopo 1 anno dall'infezione. Pertanto si consiglia di eseguire un nuovo test allo scadere dell'anno dalla presunta contaminazione.

In quarto luogo, una continua attività di counseling al soggetto che ha subito un'esposizione occupazionale, è di fondamentale importanza. Infatti, sebbene il rischio di infezione, come abbiamo visto, sia in genere molto basso, l'impatto emotivo dell'esposizione è spesso consistente. Per esempio, anche se viene ripetuto che c'è un basso rischio di infezione, viene contemporaneamente raccomandato un ciclo di terapia per almeno 4 settimane, un continuo monitoraggio della risposta anticorpale agli antigeni di HIV e un cambiamento dei normali comportamenti sessuali (astinenza o utilizzo del profilattico) allo scopo di prevenire la trasmissione secondaria. Tutto questo influenza profondamente la vita del soggetto esposto per mesi. Per questo motivo l'esistenza di persone che possano essere adeguati referenti è di fondamentale importanza. Dovrà essere indicato al soggetto esposto un adeguato trattamento terapeutico, che è variabile a seconda del tipo di contaminazione riportato (vedi bollettino MMWR, vol. 47, No RR-7 del 15 Maggio 1998 e fig.4 e 5) e puntualizzata l'importanza di completare il trattamento in ogni caso. Inoltre, si dovranno consigliare adeguate misure di prevenzione della trasmissione secondaria dell'infezione durante il periodo di follow-up, in particolar modo nelle prime 6-12 settimane dal presunto contagio, quando diventa evidente la maggioranza delle sieroconversioni. Tali misure riguarderanno prevalentemente il comportamento sessuale. Pertanto si dovrà consigliare di astenersi dai rapporti sessuali o di utilizzare il profilattico e di evitare gravidanze. Se il soggetto esposto è una donna in allattamento, si dovranno rendere noti i rischi di trasmissione dell'infezione tramite l'allattamento ed eventualmente consigliare di sospenderlo. Dovranno anche essere sconsigliate le donazioni di sangue, plasma, seme, tessuti e organi. Infine, il soggetto esposto andrà consigliato di riportare al medico qualsiasi segno o sintomo che possa essere correlato alla malattia acuta (in genere presente nelle prime settimane dal contagio), poiché alcuni di questi sintomi potrebbero essere correlati sia alla presenza di un'avvenuta infezione, sia a reazioni collaterali al trattamento.

ESPOSIZIONI NON OCCUPAZIONALI

Le esposizioni non occupazionali si riferiscono sia ad esposizioni sessuali che non sessuali. Per esposizione sessuale si intende un rapporto sessuale completo con una persona in-

fetta con HIV o a rischio di infezione da HIV. Il rapporto deve essere tale che ci sia un contatto con sangue, seme o secrezioni vaginali della persona infetta o potenzialmente infetta. Le esposizioni non occupazionali e non sessuali (con l'esclusione delle esposizioni perinatali) si riferiscono a punture, iniezioni, tagli della cute o contatti delle mucose con materiale o sostanze potenzialmente contaminati.

Le persone che riportano un'esposizione non occupazionale devono in primo luogo essere identificate in base al loro comportamento a rischio (tossicodipendenza, attività sessuale promiscua, trasfusione con sangue infetto, violenza sessuale subita).

Successivamente, in base al comportamento identificato, si valuterà il rischio di contrarre l'infezione da HIV da parte del soggetto esposto. A questo proposito, il rischio di infezione da HIV per scambio di siringhe con un individuo, di cui non si conosce lo stato sierologico per gli anticorpi verso HIV, è stato stimato intorno allo 0,67% per singolo episodio. Il rischio di trasmissione dell'infezione da HIV dopo ogni singolo rapporto anale ricettivo è intorno allo 0,1-3%, mentre questo rischio scende allo 0,1-0,2% nel caso di esposizioni vaginali con fluidi infetti. Notevolmente più elevato (intorno al 95%) è il rischio di infezione da HIV negli individui trasfusi con una singola unità di sangue infetto.

Si dovrà successivamente consigliare al soggetto di controllarsi per la presenza di anticorpi anti-HIV a 6 settimane, a 3 mesi e a 6 mesi dal presunto contagio. Il controllo potrà estendersi ad un anno per i motivi sopra specificati. Se il soggetto nel frattempo non ha avuto ulteriori comportamenti a rischio, l'assenza di anticorpi specifici per HIV ad un anno dal presunto contagio indica assenza di infezione da HIV.

Infine, si procederà a valutare la necessità di iniziare una terapia preventiva. Tuttavia, a tale proposito, a causa della mancanza di dati di letteratura sull'uso di agenti antiretrovirali in casi di esposizione non occasionale, i CDC non sono in grado di indicare alcun approccio terapeutico. Comunque, se si intende effettuare una terapia si dovrà a) informare il paziente della mancanza di dati sull'efficacia della terapia; b) selezionare i farmaci facendo attenzione alla tossicità e alle caratteristiche del soggetto esposto; c) restringere l'uso della terapia esclusivamente ai casi che presentano un elevato rischio di trasmissione dell'infezione da HIV.

Figure

Fig. 1: Rappresentazione schematica di un saggio Elisa.
(A): indiretto; (B): a sandwich.

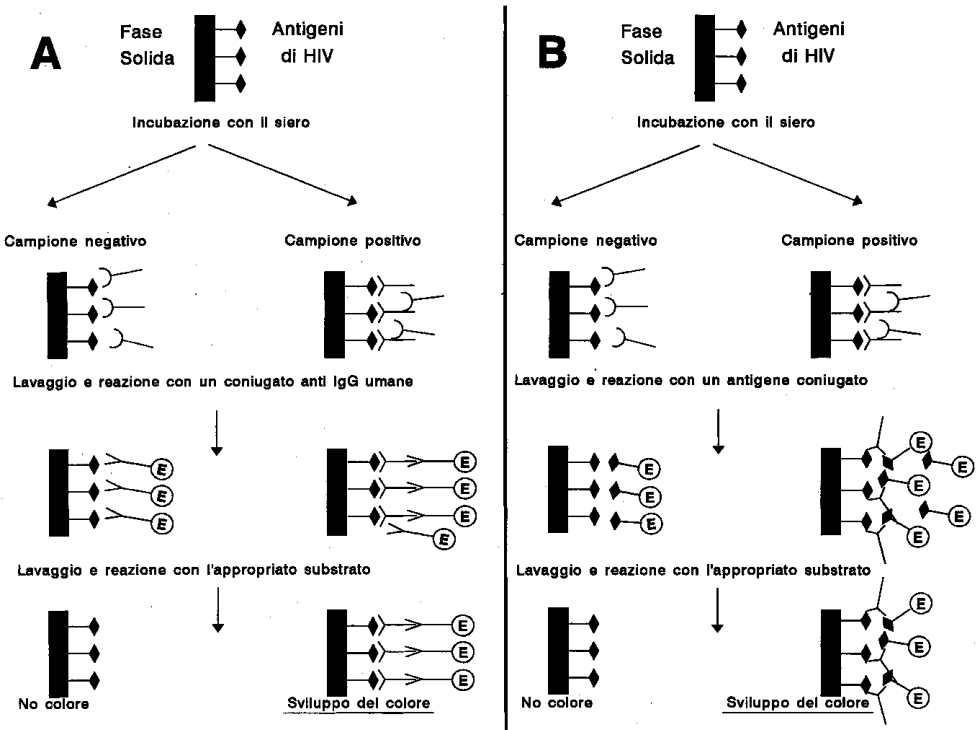


Fig. 2: Evoluzione del pattern di WB in un paziente durante la sieroconversione.
I numeri in basso indicano (da sinistra a destra)
dopo quanti giorni dal contatto con il virus è stato eseguito il test.
PC: controllo positivo; NC: controllo negativo.

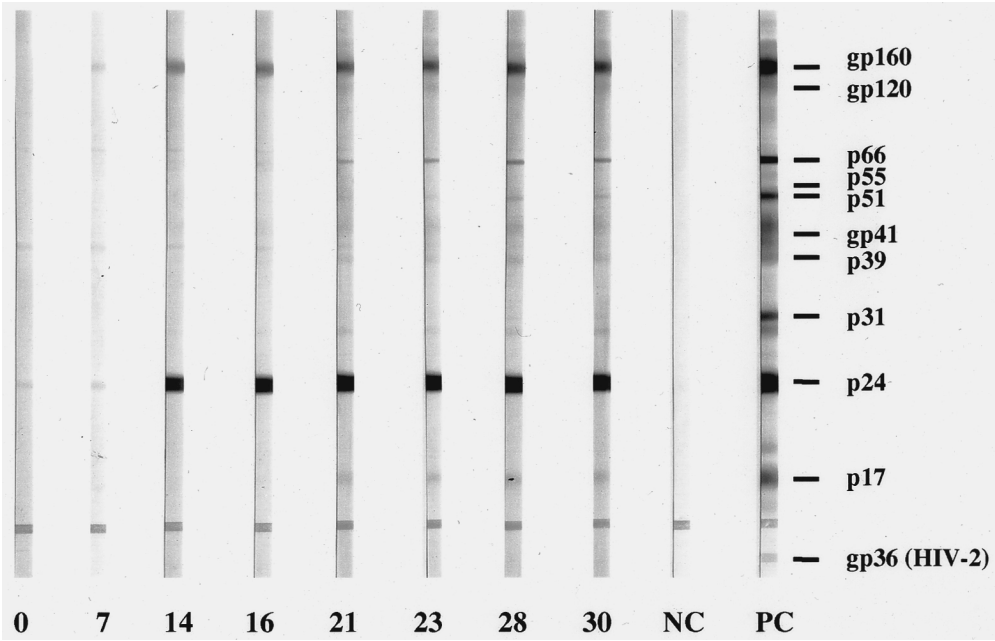


Fig. 3: Esempio di algoritmo comunemente seguito per la diagnosi di infezione da HIV.

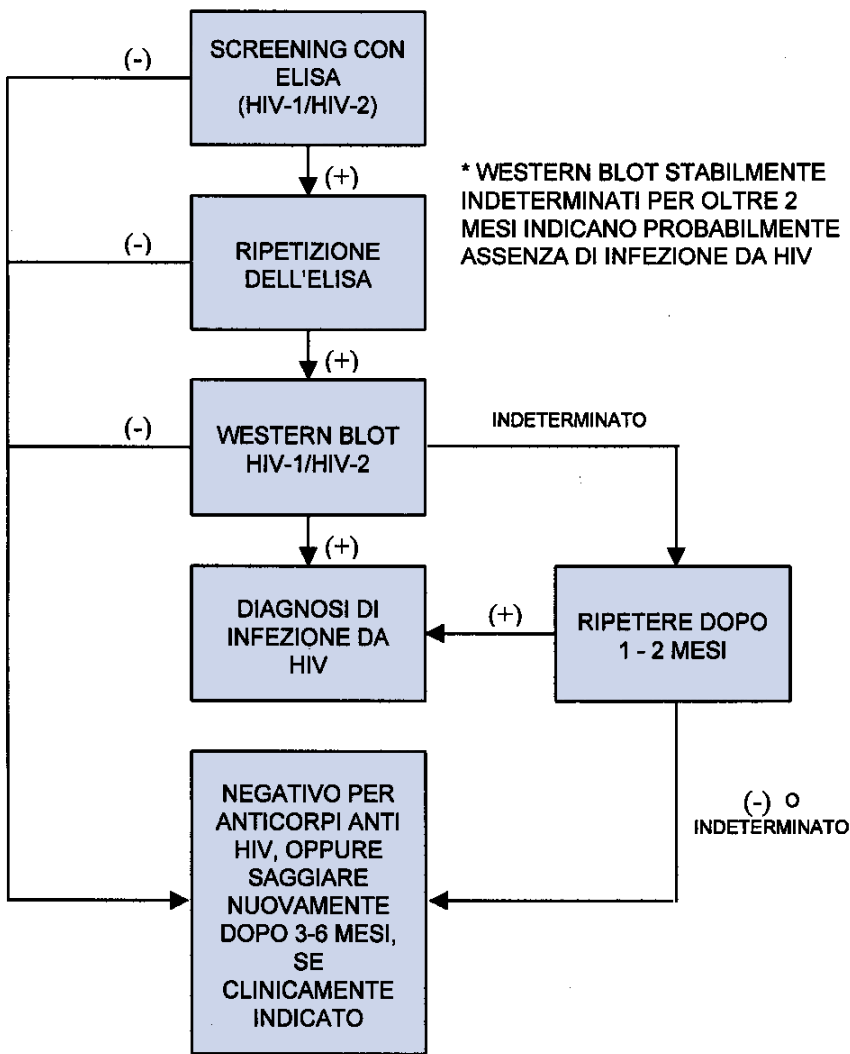


Fig. 4: Algoritmo per la determinazione del tipo di esposizione occasionale.
(Adattato da MMWR, 1998; 47: No RR-7, pag. 15)

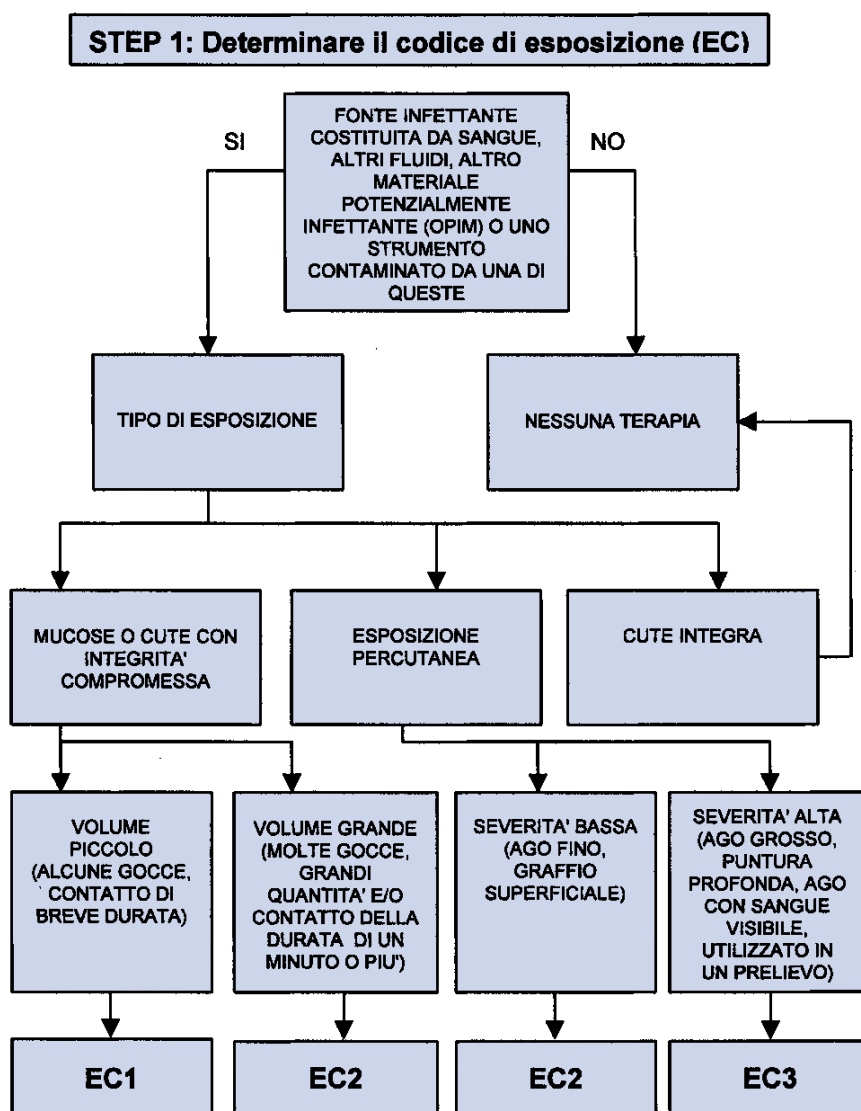


Fig. 5A: Algoritmo per la determinazione dello status HIV, della fonte infettante e della terapia da adottare.
(Adattato da MMWR, 1998; 47: No RR-7, pag.15)

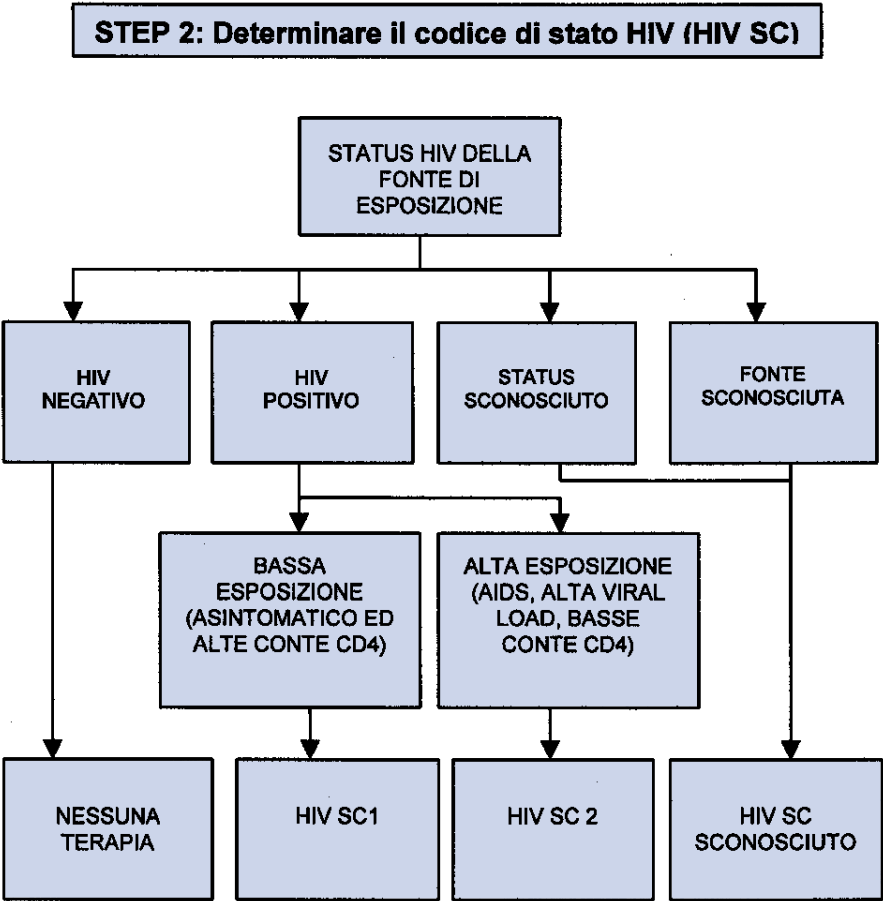


Fig. 5B: Algoritmo per la determinazione dello status HIV, della fonte infettante e della terapia da adottare.
(Adattato da MMWR, 1998; 47: No RR-7, pag.15)

STEP 3: Determinare la terapia

EC	HIV SC	Terapia
1	1	<u>La terapia potrebbe non essere consigliata.</u> L'esportazione non è sufficiente e il rischio di trasmissione non è noto.
1	2	<u>Considerare un regime base.</u> Il tipo d'esposizione pone un rischio basso d'infezione da HIV.
2	1	<u>Il regime base è raccomandato.</u> La maggior parte delle esposizioni ricade in questa categoria.
2	2	<u>Raccomandare un regime allargato.</u> Il tipo d'esposizione rappresenta un elevato rischio di trasmissione dell'infezione.
3	1 o 2	<u>Raccomandare un regime allargato.</u> Il tipo d'esposizione rappresenta un elevato rischio di trasmissione dell'infezione.
SCONOSCIUTO		Se la fonte è sconosciuta ma l'esposizione è avvenuta in un ambiente a rischio, dove sono possibili esposizione di tipo EC 2 o EC 3, considerare un regime base.

Bibliografia

1. Carlson JR., Bryant ML., Hinrichs SH. et al., " *AIDS serology testing in low and high risk groups*" , JAMA 1985; 253: 3405.
2. Centers for Disease Control, " *Interpretation and use of the Western Blot assay for the serodiagnosis of human immunodeficiency virus type I infections*" , MMWR 1989; 38: 1.
3. Daar ES., Moudgil T., Meyer RD., Ho DD., " *Transient high levels of viremia in patients with primary human immunodeficiency virus type I infection*" , N. Eng. J. Med. 1991; 324: 961.
4. Jackson JB., MacDonald KL., Cadwell J., et al., " *Absence of HIV infection in blood donors with indeterminate Western Blot tests for antibody to HIV-1*" , N. Eng. J. Med. 1990; 322:217.
5. Kamami N., Krilov LR., Wittek AE., Hendry RM., " *Characterization of the serological profile of children with human immunodeficiency virus infection: correlation with the clinical status*" , Clin Immunol. Immunopathol. 1989; 53: 233.
6. Metcalf JA., Davey RT. Jr., Lane C., " *Acquired immunodeficiency syndrome: serologic and virologic tests. In: Biology, diagnosis, treatment and prevention*" Fourth edition. Edited by De Vita VT., Hellman S. Jr., Rosenberg SA. Lippincott-Raven Publishers, 1997.
7. Moss AR., Bacchetti P., " *Natural history of HIV infection*" , AIDS 1989; 3: 55.
8. Natarajan V., Plishka RJ., Scott EW., Lane HC., Salzman NP., " *An internally controlled virion PCR for the measurement of HIV-1 RNA in plasma*" , PCR Methods Appl. 1994; 3: 346.
9. Pane F., Buttò S., Gobbo ML. et al., " *Direct detection of proviral gag segment of HIV in peripheral blood lymphocytes by a colorimetric PCR assay as a clinical laboratory tool applied to different at-risk populations*" , J. Clin. Microbiol. 1995; 33: 641.
10. Ranki A., Valle SL., Krohn M., et al., " *Long latency precedes overt seroconversion in sexually transmitted human immunodeficiency virus infection.*" , Lancet 1987; 2: 589.
11. Aldovini A. and Walker BD., " *Techniques in HIV research*" , Edited by Stockton Press, New York, 1990.
12. Tobwin H., Staelin T., Gordon J., " *Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications*" , Proc. Natl. Acad. Sci. (USA) 1979; 76: 4350.
13. Ward JW., Holmberg SD., Allen JR. et al., " *Transmission of human immunodeficiency virus (HIV) by blood transfusions screened as negative for HIV antibody*" , N. Eng. J. Med. 1988; 318: 473.

I DATI DEL SISTEMA DI SORVEGLIANZA REGIONALE PER L'HIV



Paolo Spolaore, Giovanni Gallo, Federica Michieletto

Dipartimento Prevenzione, Assessorato Sanità, Regione Veneto

Al 31 Dicembre '98 (Tab.1) sono stati diagnosticati dalle strutture di assistenza della regione Veneto, 2.676 casi di AIDS, di cui 2.404 (89.8%) residenti e 272 (10.2 %) non residenti. Nello stesso periodo, altri 170 casi di AIDS sono stati segnalati da altre regioni a carico di persone residenti nel Veneto pari al 6.6% del totale di 2.574 casi.

Tab. 1: Casi cumulativi di AIDS al 31/12/98
per regione di prima segnalazione e di residenza.

Veneto			Extra Veneto	Tot. Resid.
Regione di residenza	n.	%	n.	n.
Veneto	2404	89.8	170	2574
Extra Veneto	272	10.2	95	367
Tot. segn.(1 ^a diagn.)	2676	-	265	2941

La Tab. 1 presenta i casi segnalati per anno e il relativo totale cumulato. Dei 2.574 casi residenti nella nostra regione 1.892 sono deceduti e la letalità complessiva nel periodo è del 73.5 %.

Tab. 2: Numero di casi residenti per anno

<i>Anno di diagnosi</i>	<i>Casi segnalati</i>	<i>Decessi</i>	<i>Decessi (cumulati)</i>	<i>Casi prevalenti</i>
84	3	1	1	2
85	11	4	5	9
86	28	15	20	22
87	57	29	49	50
88	96	43	92	103
89	156	64	156	195
90	200	124	280	271
91	233	146	426	358
92	262	223	649	397
93	309	245	894	461
94	334	278	1172	517
95	323	270	1442	570
96	282	264	1706	588
97	185	149	1855	624
98	95	37	1892	682

Si può osservare che il numero dei casi prevalenti, che offrono la principale misura per stimare le necessità di assistenza, continua ad aumentare. Ma occorre ricordare, a questo proposito, che tale valore è sovrastimato per effetto del ritardo e della sottotifica per i decessi legati all'AIDS.

Analisi per sesso ed età

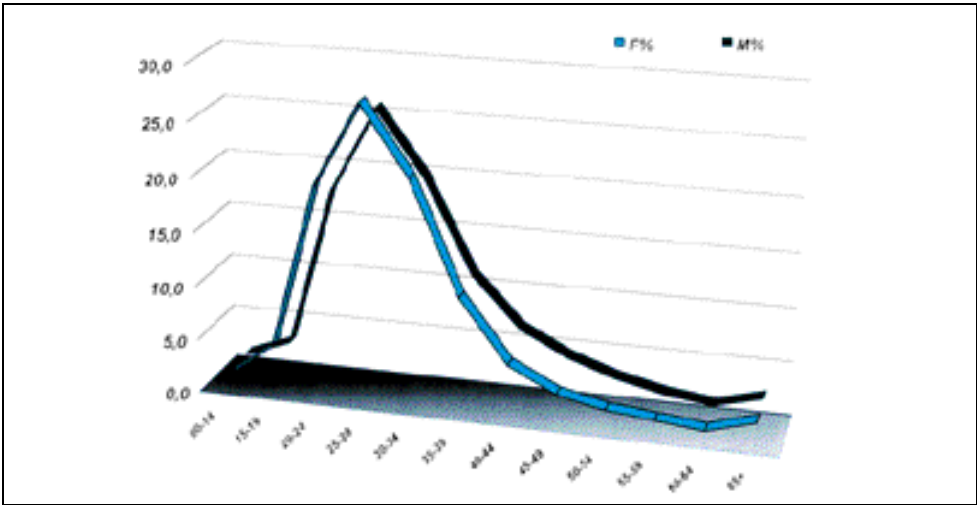
Dall'aprile 1988 al 31/12/1997, nella rete delle strutture sanitarie pubbliche della Regione Veneto afferenti al SIRV sono state sottoposte al test di screening 106.956 persone per un totale di 162.820 test (Tab. 3).

Tab. 3: Soggetti esaminati per sesso, classi di età e risultato del test HIV

Età	Positivi					Negativi			Totale				
	F	M	Tot.	F%	M%	F	M	Tot.	F	M	Tot	F%	M%
00-14	52	84	136	3.3	2.0	571	843	1414	623	927	1550	1.4	1.5
15-19	35	24	59	2.2	0.6	2055	1892	3947	2090	1916	4006	4.5	3.2
20-24	329	467	796	20.6	10.9	8801	10402	19203	9130	10869	19999	19.8	17.9
25-29	626	1446	2072	39.1	33.8	12024	14221	26245	12650	15667	28317	27.5	25.8
30-34	351	1204	1555	22.0	28.1	9390	10886	20276	9741	12090	21831	21.1	19.9
35-39	104	501	605	6.5	11.7	4901	6357	11258	5005	6858	11863	10.9	11.3
40-44	41	232	273	2.6	5.4	2315	3872	6187	2356	4104	6460	5.1	6.8
45-49	26	144	170	1.6	3.4	1306	2610	3916	1332	2754	4086	2.9	4.5
50-54	15	89	104	0.9	2.1	875	1754	2629	890	1843	2733	1.9	3.0
55-59	10	40	50	0.6	0.9	678	1180	1858	688	1220	1908	1.5	2.0
60-64	6	28	34	0.4	0.7	490	853	1343	496	881	1377	1.1	1.5
65+	4	23	27	0.3	0.5	1067	1564	2631	1071	1587	2658	2.3	2.6
Tot.	1.599	4.282	5.881	100	100	44.473	56.434	100.907	46.072	60.716	106.788	100	100

Il 56.8% di tali soggetti è di sesso maschile (Tab. 3) e la percentuale più alta di maschi esaminati (25.8%) ha un'età compresa tra i 25 e i 29 anni (Fig. 1).

Fig. 1: Distribuzione percentuale dei soggetti esaminati per classi d'età e sesso

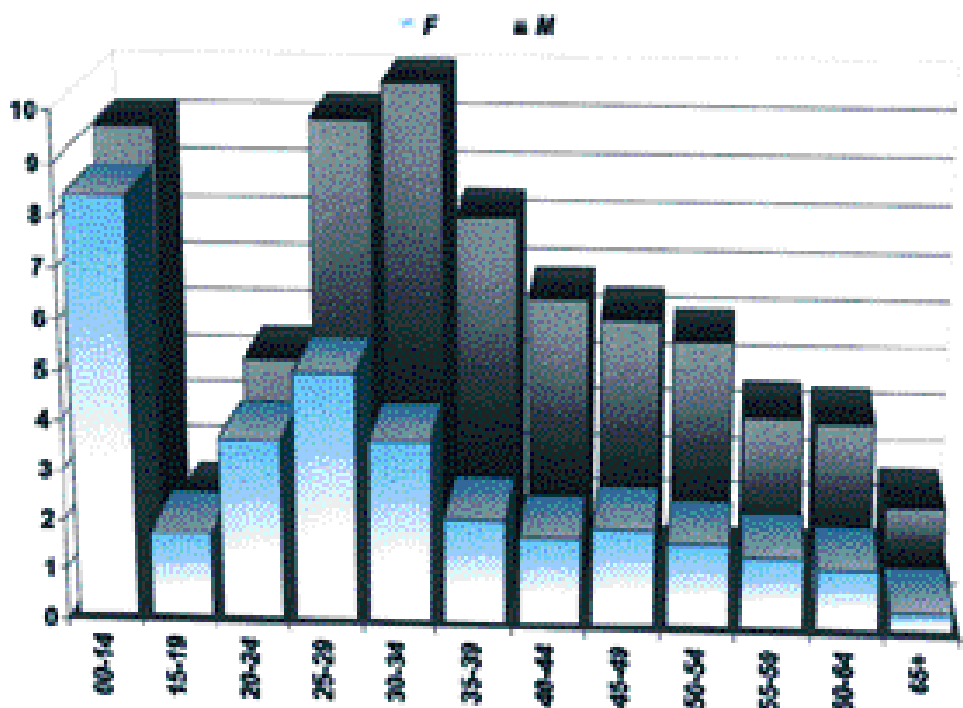


Anche le femmine esaminate appartengono per il 27.5% a tale fascia d'età ed infatti circa il 66% della totalità dei soggetti esaminati ha un'età compresa tra i 20 e 34 anni.

Sono stati individuati 5.881 soggetti positivi al test per l'HIV.

Nelle fasce d'età esaminate le frequenze relative (positivi/testati) più alte di soggetti sieropositivi (Fig. 2) si hanno tra i 25 e 29 anni per le femmine e tra i 30-34 per i maschi (se si escludono le frequenze relative calcolate tra i bambini che hanno una motivazione al test completamente diversa).

Fig. 2: Frequenza relativa dei soggetti HIV positivi nelle classi d'età, per sesso



L'analisi temporale dei soggetti sieropositivi (Tab. 4) rivela, fino al 1996, un trend in forte diminuzione sia nei maschi che nelle femmine, nonostante il numero di test effettuati fino a quell'anno sia sempre stato in aumento. Per quel che riguarda il 1997, si è avuta una lieve flessione nel numero di test (da 21.600 effettuati nel '96 si è passati a 20.053) mentre il numero di nuovi soggetti sieropositivi è leggermente aumentato (281 nuovi soggetti), con incremento maggiore tra i maschi.

Tab. 4: Soggetti HIV positivi per anno di diagnosi e sesso (dal 1988 al 31/12/1997)

<i>Anno</i>	<i>F</i>	<i>M</i>	<i>Tot.</i>	<i>Variazioni annue</i>	<i>M/F</i>
1988	232	646	878		2.8
1989	259	746	1005	14.5	2.9
1990	209	619	828	-17.6	3.0
1991	219	591	810	-2.2	2.7
1992	179	498	677	-16.4	2.8
1993	145	340	485	-28.4	2.3
1994	109	247	356	-26.6	2.3
1995	97	247	344	-3.4	2.5
1996	76	141	217	-36.9	1.9
1997	74	207	281	29.5	2.8
Tot.	1599	4282	5881		2.7

Considerando il rapporto maschi/femmine si nota un aumento della percentuale femminile: dal rapporto 3:1 del 1988 si è arrivati, nel '96, a 1.9:1 (Fig. 3 e 4). Se si considera però il '97, tale trend si è invertito (incremento maschile).

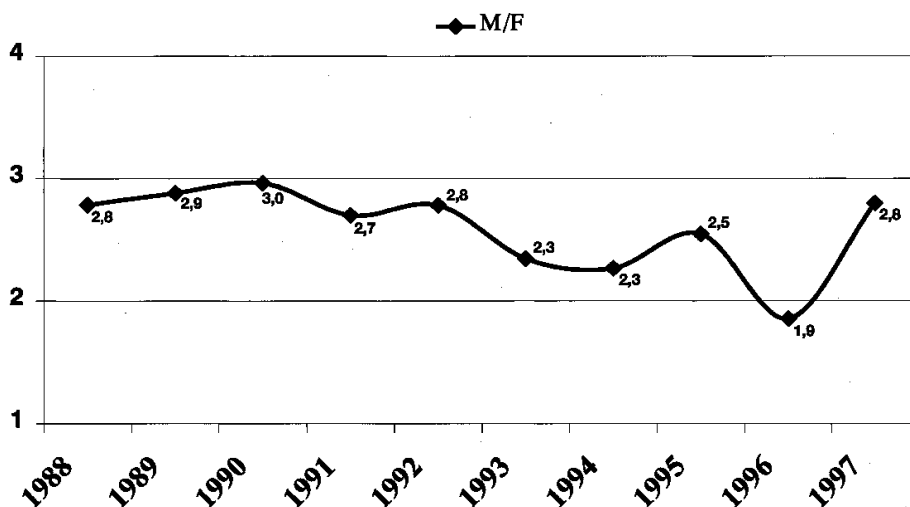
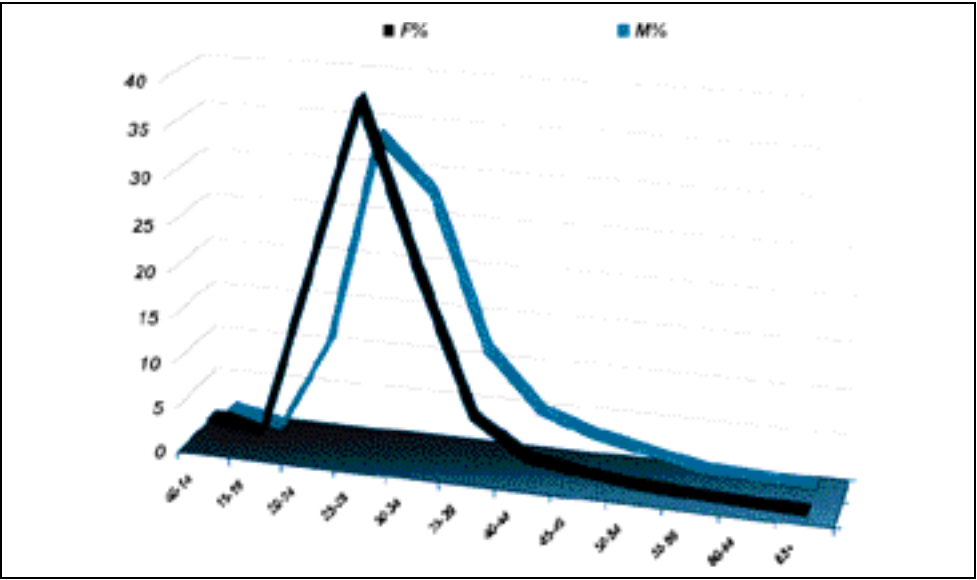
Fig. 3: Rapporto Maschi/Femmine nel gruppo dei soggetti HIV positivi per anno di diagnosi

Fig. 4: Distribuzione dei soggetti HIV positivi per classi d'età e sesso



La percentuale più alta di femmine sieropositive (39%) ha un'età compresa tra i 25 e i 29 anni; meno netto il picco dei maschi che presenta uno slittamento verso fasce d'età più adulte.

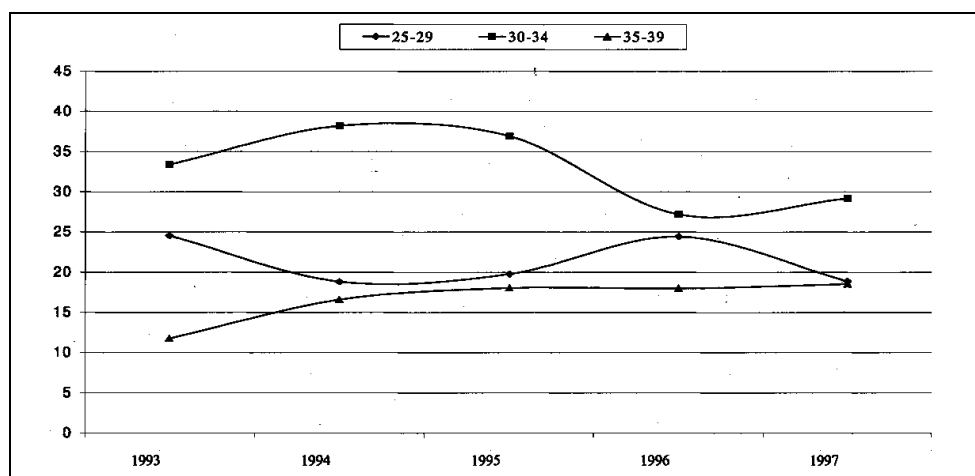
Tab. 5: Soggetti HIV positivi per età e anno di diagnosi (dal 1988 al 31/12/1998)

Età	1988	1989	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	Tot.
00-14	56	23	5	8	7	5	0	13	2	17	136
15-19	13	10	3	10	11	4	4	2	1	1	59
20-24	203	191	117	77	70	49	29	22	18	20	796
25-29	369	442	364	306	231	119	67	68	53	53	2072
30-34	167	213	203	230	176	162	136	127	59	82	1555
35-39	37	73	71	80	75	57	59	62	39	52	605
40-44	19	26	25	38	46	37	23	23	15	21	273
45-49	9	12	15	34	19	18	19	13	14	17	170
50-54	1	9	11	14	22	18	7	7	8	7	104
55-59	3	3	6	7	7	4	6	5	4	5	50
60-64	1	0	5	2	9	7	5	1	2	2	34
65+	0	3	3	4	4	5	1	1	2	4	27
Tot.	878	1005	828	810	677	485	356	344	217	281	5881

Tab. 6: Distribuzione percentuale dei soggetti HIV positivi per età e anno di diagnosi

Età	1988	1989	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997
00-14	6.4	2.3	0.6	1.0	1.0	1.0	0.0	3.8	0.9	6.0
15-19	1.5	1.0	0.4	1.2	1.6	0.8	1.1	0.6	0.5	0.4
20-24	23.1	19.0	14.1	9.5	10.3	10.1	8.1	6.4	8.3	7.1
25-29	42.0	44.0	44.0	37.8	34.1	24.5	18.8	19.8	24.4	18.9
30-34	19.0	21.2	24.5	28.4	26.0	33.4	38.2	36.9	27.2	29.2
35-39	4.2	7.3	8.6	9.9	11.1	11.8	16.6	18.0	18.0	18.5
40-44	2.2	2.6	3.0	4.7	6.8	7.6	6.5	6.7	6.9	7.5
45-49	1.0	1.2	1.8	4.2	2.8	3.7	5.3	3.8	6.5	6.0
50-54	0.1	0.9	1.3	1.7	3.2	3.7	2.0	2.0	3.7	2.5
55-59	0.3	0.3	0.7	0.9	1.0	0.8	1.7	1.5	1.8	1.8
60-64	0.1	0.0	0.6	0.2	1.3	1.4	1.4	0.3	0.9	0.7
65+	0.0	0.3	0.4	0.5	0.6	1.0	0.3	0.3	0.9	1.4

Esaminando il trend temporale del numero di soggetti sieropositivi per fasce d'età, si nota un progressivo invecchiamento della popolazione: nel 1988-89 il 43% dei soggetti aveva un'età compresa tra i 25 e 29 anni; dal '93 il maggior numero di sieropositivi è contenuto nella fascia 30-34 anni che diventa, negli anni successivi, asse di simmetria per le fasce 20-29 e 35-44 (Tab. 5, Tab. 6, Fig. 5)

Fig. 5: Distribuzione percentuale dei soggetti HIV positivi, in età 20-39, per anno di diagnosi (dettaglio '93-'97)

Analisi per fattori di rischio

Tra i soggetti che si sottopongono al test (Tab. 7, Fig. 6) il 32.9% dichiara un'esposizione eterosessuale ed il 20% di fare uso iniettivo di droghe.

Tab. 7: Totalità dei soggetti adulti esaminati per comportamenti a rischio e diagnosi (anno di prima afferenza)

Fattore	1988	1989	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997
TD	2226	2464	2558	2769	2420	1991	1702	1701	1404	1154
Omo-bisex	235	257	328	323	307	304	294	272	294	266
Eterosex	1149	1388	2179	2919	4196	4163	4153	5043	5139	4748
Emofilici	137	261	287	470	600	634	367	345	373	235
Altro	1301	1867	3149	4528	5069	4956	4954	5643	6911	6106
Tot.	5.048	6.237	8.501	11.009	12.592	12.048	11.470	13.004	14.121	12.509

Il 41.7% dei soggetti esaminati non riferisce il comportamento a rischio, ma di questi 44.484 solo 606 risultano essere sieropositivi.

Tra i sieropositivi (Tab. 8 e Tab. 9), infatti, le proporzioni cambiano completamente rilevando come fattore di rischio principale l'uso iniettivo di droghe (60.3%) seguito dalla trasmissione sessuale (15.3%).

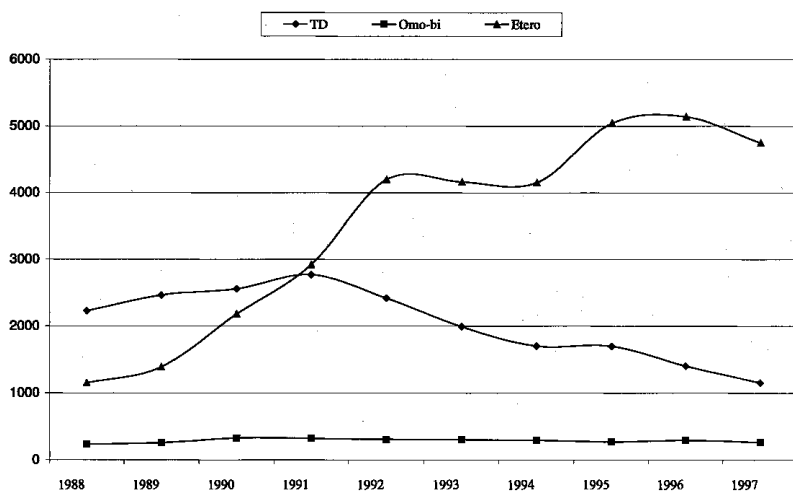
Tab. 8: Soggetti esaminati per comportamenti a rischio, sesso e risultato del test HIV

Fattore	Positivi						Negativi			Totale		
	F	%	M	%	Tot.	+/Tot.	F	M	Tot.	F	M	Tot.
TD	825	51.6	2721	63.5	3546	17.4	2978	13865	16843	3803	16586	20389
Omo-bisex	1	0.1	585	13.7	586	20.3	32	2262	2294	33	2847	2880
Eterosex	495	31.0	403	9.4	898	2.6	15996	18182	34178	16491	18585	35076
Emofilici	18	1.1	103	2.4	121	3.3	1790	1798	3588	1808	1901	3709
Bambini	51	3.2	73	1.7	124	40.4	75	108	183	126	181	307
Altro	209	13.1	397	9.3	606	1.4	23641	20236	43877	23850	20633	44483
Tot.	1.599	100.0	4.282	100,0	5.881	5.5	44.512	56.451	100.963	46.111	60.733	106.844

Tab. 9: Soggetti positivi adulti esaminati per comportamenti a rischio e anno di diagnosi

Fattore	1988	1989	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	Tot.
TD	693	764	579	511	354	238	154	127	52	74	3546
Omo-bisex	37	62	74	69	84	59	56	55	36	54	586
Eterosex	43	95	84	122	108	91	77	88	94	96	898
Emofilici	24	19	18	31	12	3	3	7	3	1	121
Altro	30	46	68	69	115	89	66	54	30	39	606
Tot.	827	986	823	802	673	480	356	331	215	264	5757

Fattore %	1988	1989	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	Tot.
TD	83.8	77.5	70.4	63.7	52.6	49.6	43.3	38.4	24.2	28.0	61.6
Omo-bisex	4.5	6.3	9.0	8.6	12.5	12.3	15.7	16.6	16.7	20.5	10.2
Eterosex	5.2	9.6	10.2	15.2	16.0	19.0	21.6	26.6	43.7	36.4	15.6
Emofilici	2.9	1.9	2.2	3.9	1.8	0.6	0.8	2.1	1.4	0.4	2.1
Altro	3.6	4.7	8.3	8.6	17.1	18.5	18.5	16.3	14.0	14.8	10.5

Fig. 6: Distribuzione dei soggetti che si sono sottoposti al test in base al rischio nel tempo (anno di prima afferenza)

Analizzando in dettaglio il gruppo degli eterosessuali si nota come tra i sieropositivi ci sia una maggioranza femminile concentrata, soprattutto, nella categoria dei rapporti con soggetto a rischio non noto (Tab. 10).

Tab. 10: Soggetti eterosessuali che si sono sottoposti al test per risultato del test e comportamento a rischio

	Positivi				Negativi			Totale		
	F	M	Tot.	+/Tot.	F	M	Tot.	F	M	Tot.
Prostituzione (senza tossicodip.)	13	2	15	3.7	384	7	391	397	9	406
Rapp.eteros. con sogg. a risc. non noto (no prost.)	115	235	350	1.3	11325	14519	25844	11440	14754	26.194
Rapp.eteros.con sogg. a risc.noto (no prost.)	366	154	520	6.5	4284	3138	7422	4650	3292	7.942
Rapporti eterosessuali con prostitute	1	12	13	2.4	3	518	521	4	530	534
Tot.	495	403	898	2.6	15.996	18.182	34.178	16.491	18.585	35.076

La composizione dei sieropositivi è molto variata nel corso degli anni. Esaminando il gruppo dei tossicodipendenti si nota che dal picco di 764 nuovi casi individuati nel 1989 (77.5%) si passa a 52 nuovi sieropositivi nel 1996 (pari al 24%) per poi risalire nel '97 a 74 (28%).

Il numero di omosessuali, in decremento tra il '92 e il '96, è nel '97, nuovamente aumentato; il trend percentuale è in lenta crescita (Fig. 7, 8 e 9).

Per quel che riguarda la proporzione di eterosessuali l'aumento, dai primi anni, è importante: si passa infatti dal 5% dell'88 al picco del 51.6% nel '96 seguito dalla flessione al 43% del '97: considerando però i numeri assoluti non si rilevano sensibili variazioni (Fig. 7, 8 e 9).

Fig. 7: Distribuzione dei soggetti HIV positivi in base al rischio nel tempo (dettaglio anni '93-'97)

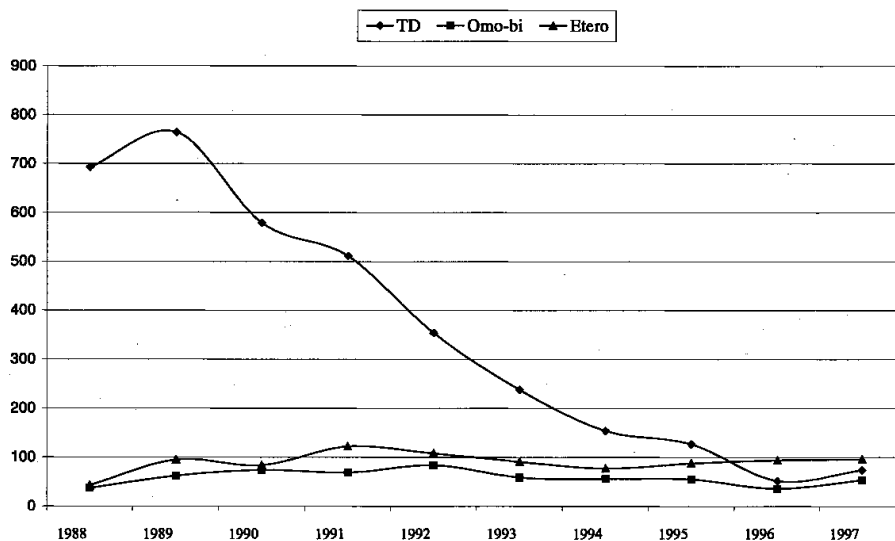


Fig. 8: Frequenza assoluta

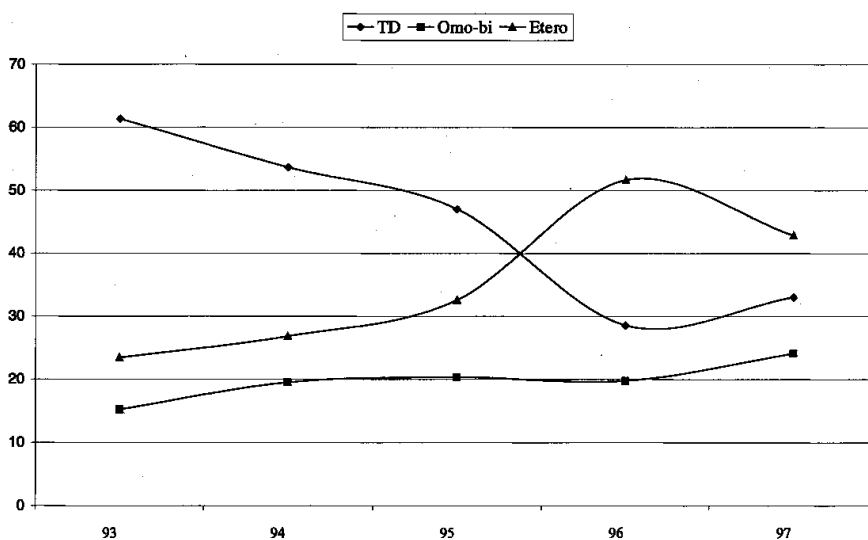
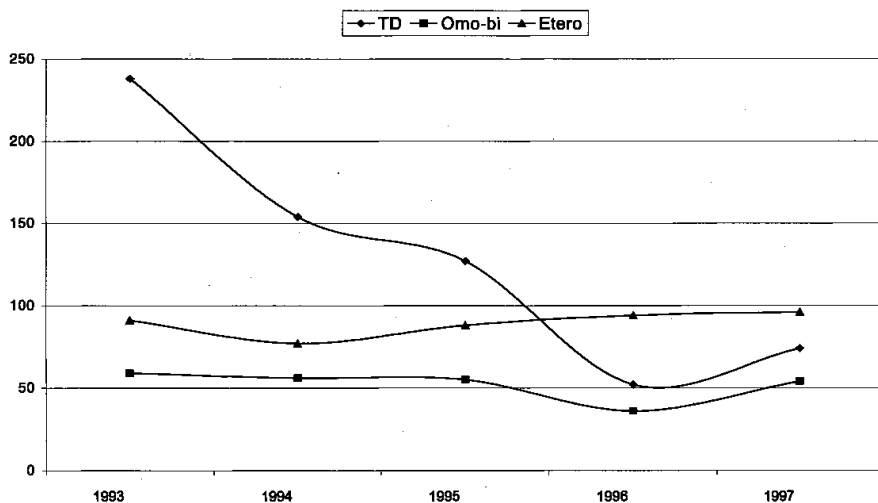


Fig. 9: Frequenza relativa



Analisi per provincia

L'analisi territoriale dei soggetti segnalati, con dettaglio provinciale, dimostra come le province con maggior numero di soggetti esaminati siano quelle di Verona, Vicenza, Treviso, e Venezia. Questo dato può essere letto come misura della capacità di captazione di soggetti da parte delle diverse strutture di afferenza della provincia ma è anche funzione della diversa presenza nelle province di gruppi ad alto rischio (Tab. 11).

Tab. 11: Soggetti esaminati per provincia di residenza e risultato del test HIV

Provincia	Negativi	Positivi	%	Indet.	Tot.
E.V.*	5090	214	4.0	2	5.306
BL	1992	143	6.7		2.135
PD	12108	1016	7.7	2	13.126
RO	7467	185	2.4	1	7.653
TV	16713	538	3.1	4	17.255
VE	15581	747	4.6	8	16.336
VI	17005	1321	7.2	1	18.327
VR	24995	1710	6.4	3	26.708
Tot.	100.951	5.874	5.5	21	106.846

Le province con il più elevato numero di soggetti sieropositivi sono le province di Verona e di Vicenza seguite dalla provincia di Padova; sensibilmente inferiore è l'interessamento delle province di Belluno e di Rovigo.

Nelle due successive tabelle sono presentate, per provincia ed anno di segnalazione, rispettivamente il numero di soggetti sieropositivi segnalato (Tab. 12) e il corrispondente tasso di incidenza per 100.000 abitanti (Tab. 13).

Tab. 12: Soggetti HIV positivi notificati per provincia di residenza e per anno

Prov.	1988	1989	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	Cumu.
E.V.*	29	18	9	23	4	11	3	11	56	51	215
BL	10	8	5	10	22	39	17	22	4	7	144
PD	138	232	149	81	99	77	70	74	44	53	1.017
RO	16	30	11	23	11	17	32	24	8	15	187
TV	88	95	59	71	40	29	39	54	22	41	538
VE	75	171	105	121	83	50	37	42	35	29	748
VI	328	298	207	144	112	71	52	42	20	47	1.321
VR	194	153	283	337	306	191	106	75	28	38	1.711

Tab. 13: Soggetti HIV positivi notificati per provincia di residenza e per anno:
tassi per 100.000 abitanti

Prov.	1988	1989	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	Tot.
BL	4.7	3.8	2.4	4.7	10.4	18.4	8.0	10.4	1.9	3.3	64.6
PD	18.1	30.4	19.5	10.6	13.0	10.1	9.2	9.7	5.8	7.0	126.5
RO	6.4	12.0	4.4	9.2	4.4	6.8	12.8	9.6	3.2	6.0	68.7
TV	11.8	12.8	7.9	9.5	5.4	3.9	5.2	7.3	3.0	5.5	66.8
VE	8.6	19.5	12.0	13.8	9.5	5.7	4.2	4.8	4.0	3.3	82.1
VI	43.9	39.8	27.7	19.3	15.0	9.5	7.0	5.6	2.7	6.3	170.3
VR	24.6	19.4	35.9	42.7	38.8	24.2	13.4	9.5	3.6	4.8	212.2
Veneto	19.4	22.5	18.7	18.0	15.4	10.8	8.1	7.6	3.7	5.3	124.1

Le figure successive (Figg. 10-12) presentano il trend dei tassi di incidenza di notifica dei soggetti HIV positivi per province, confrontate con la media regionale.

Fig. 10: Trend di tassi di soggetti HIV positivi notificati per provincia di residenza

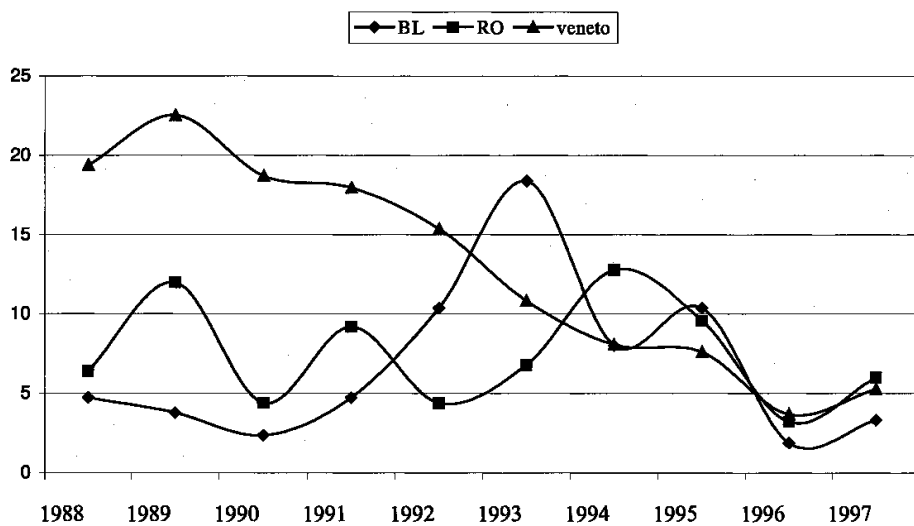


Fig. 11

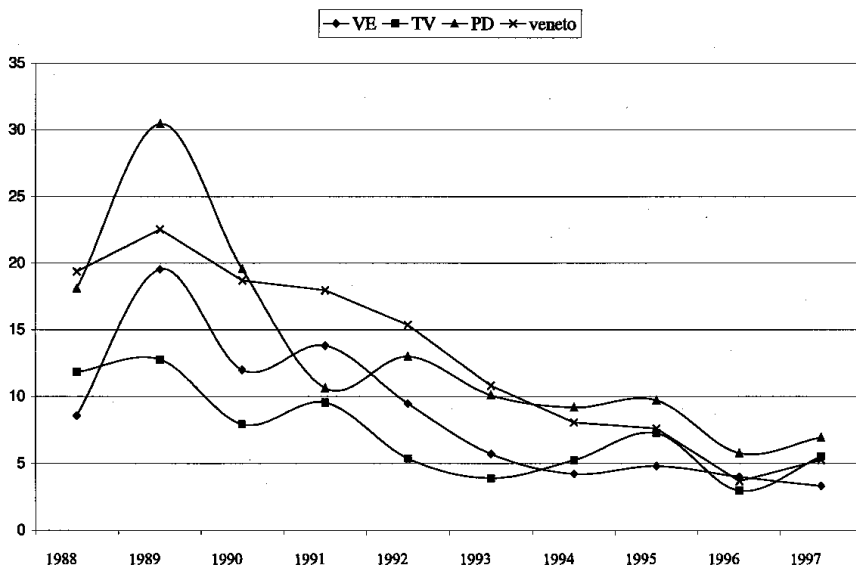
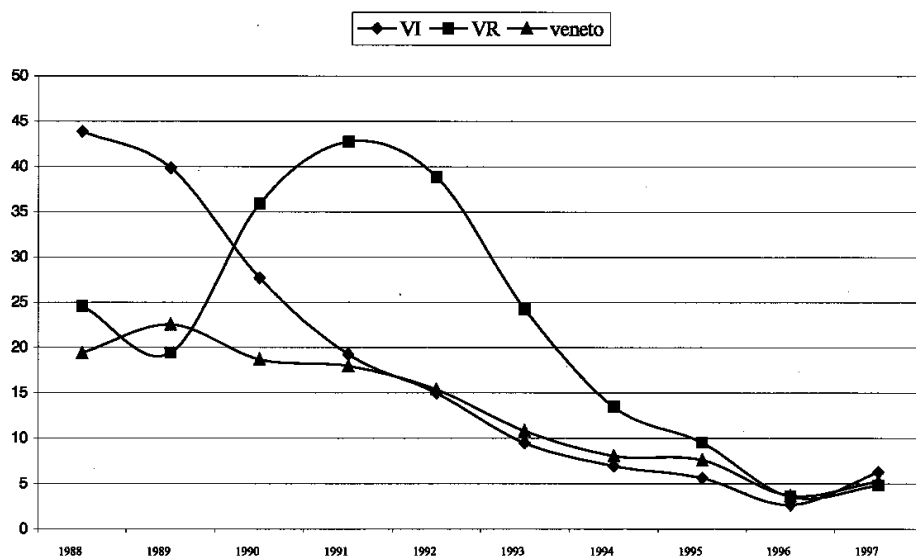


Fig. 12



Il Sistema di Sorveglianza è iniziato nel 1988 e, pertanto, soprattutto nei primi anni, il numero di segnalazioni non può essere letto come un' "incidenza", perché esso è essenzialmente funzione del numero di casi prevalenti e della funzionalità del Sistema di Sorveglianza: epoca di adesione e caratteristiche delle strutture di afferenza, loro capacità di attrazione dei diversi gruppi di rischio, ecc.

Per la maggior parte delle province si rileva una costante riduzione della notifica di casi; il trend anomalo delle province di Verona, Belluno e Rovigo è invece principalmente conseguente all'ingresso, negli anni successivi all'inizio del Sistema di Sorveglianza, di nuove e importanti strutture di afferenza.

I tassi di notifica per anno di segnalazione sono molto differenti nei primi anni e dimostrano come l'epidemia di infezione da HIV, nella nostra Regione, sia stata di gran lunga maggiore nella provincia di Vicenza e abbia quindi interessato in maniera rilevante anche le province di Verona, Padova e Venezia, mentre complessivamente minore è la diffusione nelle province di Belluno e Rovigo (Tab. 15).

Negli ultimi anni i tassi di notifica sono invece molto più simili, per cui, pur con storie diverse, la circolazione dell'infezione da HIV in tutte le province appare omogeneizzarsi verso livelli inferiori.

Si sono inoltre calcolati i flussi migratori dei pazienti da una provincia all'altra.

Tab. 15: Numero di soggetti notificati e residenti per provincia al '97

Provincia	BL	PD	RO	TV	VE	VI	VR	Tot.
E.V.	93	832	494	1250	793	664	833	4.959
BL	2003	43	2	58	16	8	1	2.131
PD	6	11976	365	183	174	104	298	13.106
RO	2	133	7223	12	13	18	250	7.651
TV	56	256	4	16561	290	58	17	17.242
VE	10	2000	196	349	13423	39	26	16.043
VI	6	220	15	138	48	17687	187	18.301
VR	4	75	17	16	26	45	26513	26.696
Tot.	2.180	15.535	8.316	18.567	14.783	18.623	28.125	106.129

Si evidenzia come, sostanzialmente, la migrazione sia un fenomeno modesto, con l'eccezione di una attrazione rilevante di soggetti residenti nella provincia di Venezia verso la Provincia di Padova.

Gli indici di attrazione e di fuga per le diverse province sono descritti nelle figure successive.

Indici di attrazione e fuga

Fig. 13: Flussi migratori

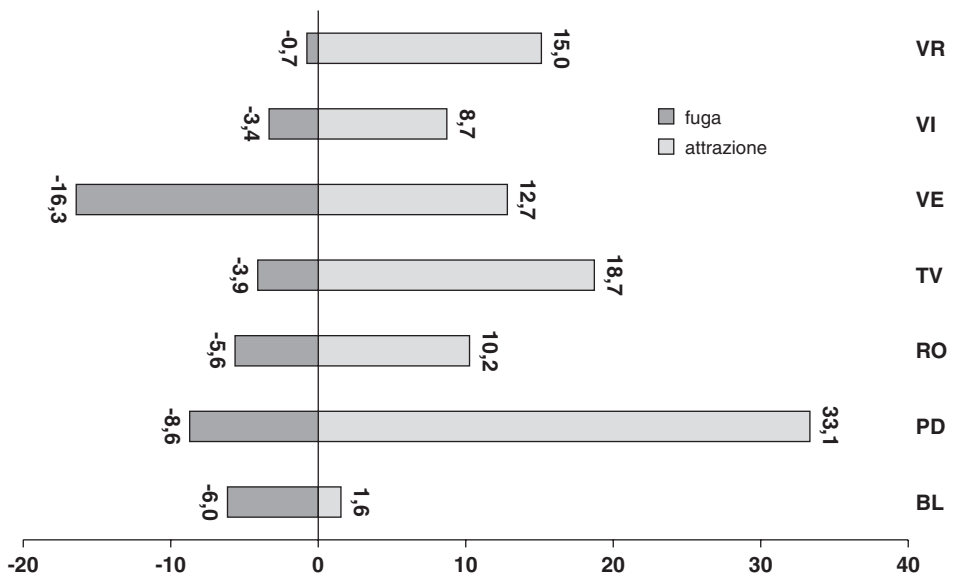


Fig. 14: Flussi migratori: Belluno

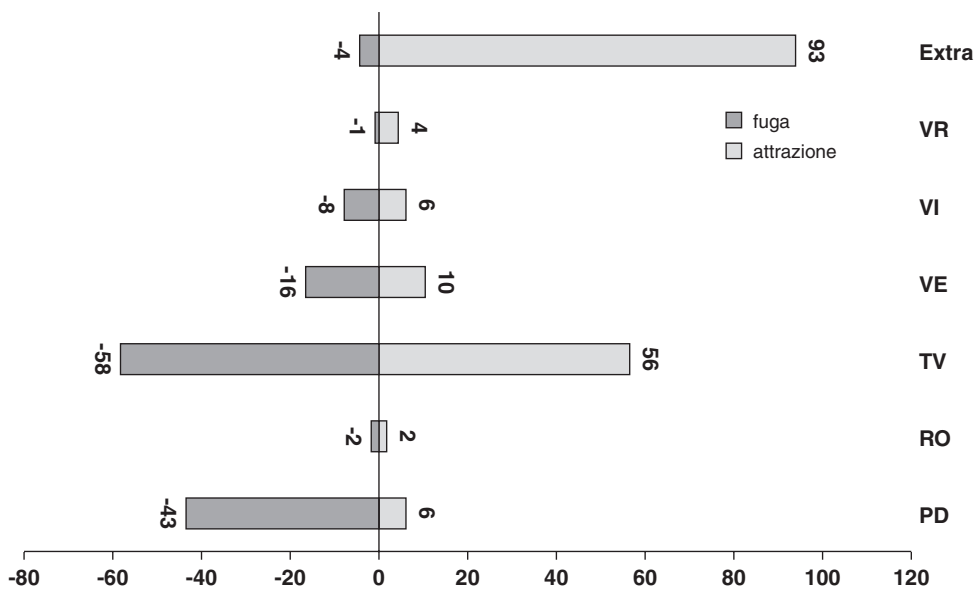


Fig. 15: Flussi migratori: Padova

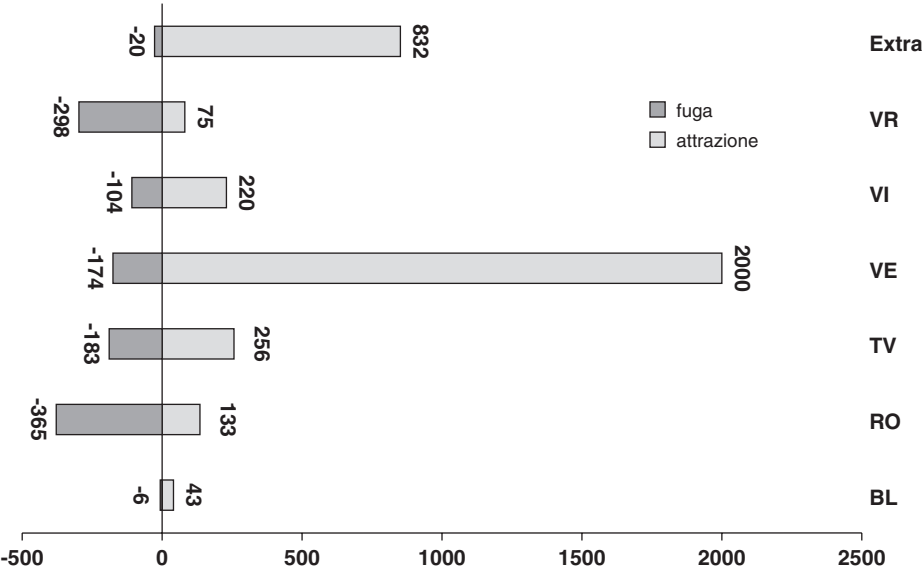


Fig. 16: Flussi migratori: Rovigo

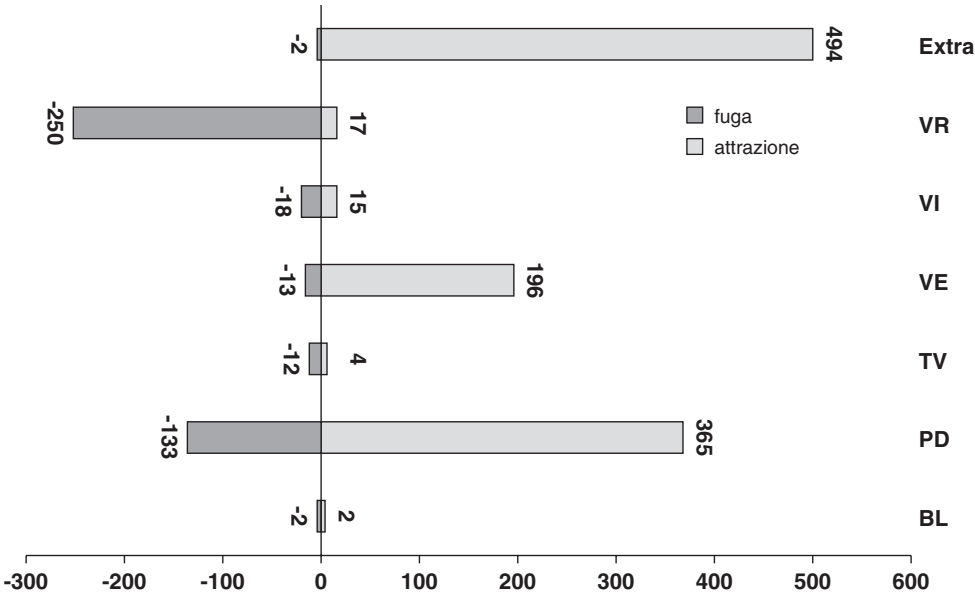


Fig. 17: Flussi migratori: Treviso

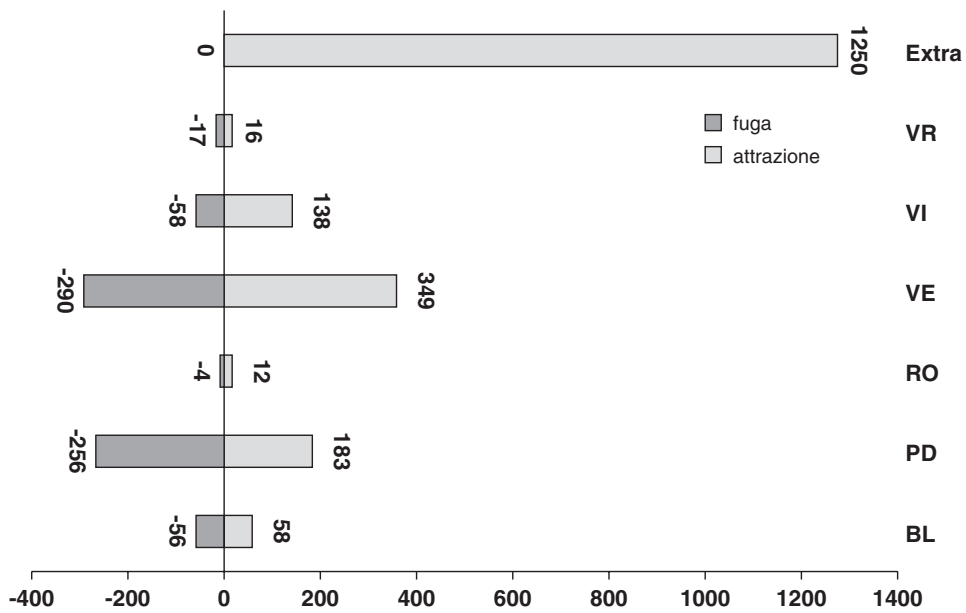


Fig. 18: Flussi migratori: Venezia

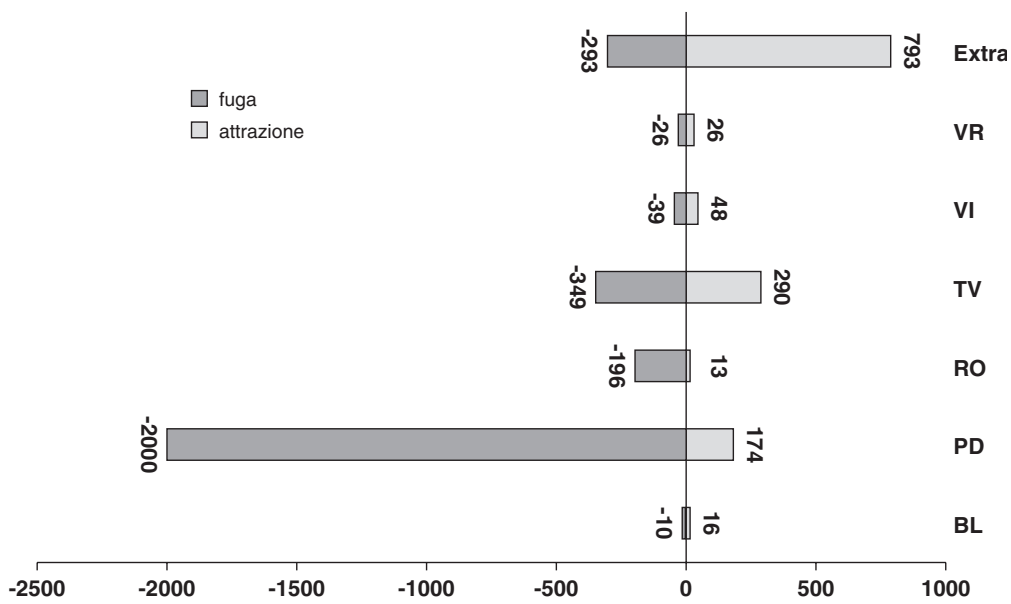


Fig. 19: Flussi migratori: Vicenza

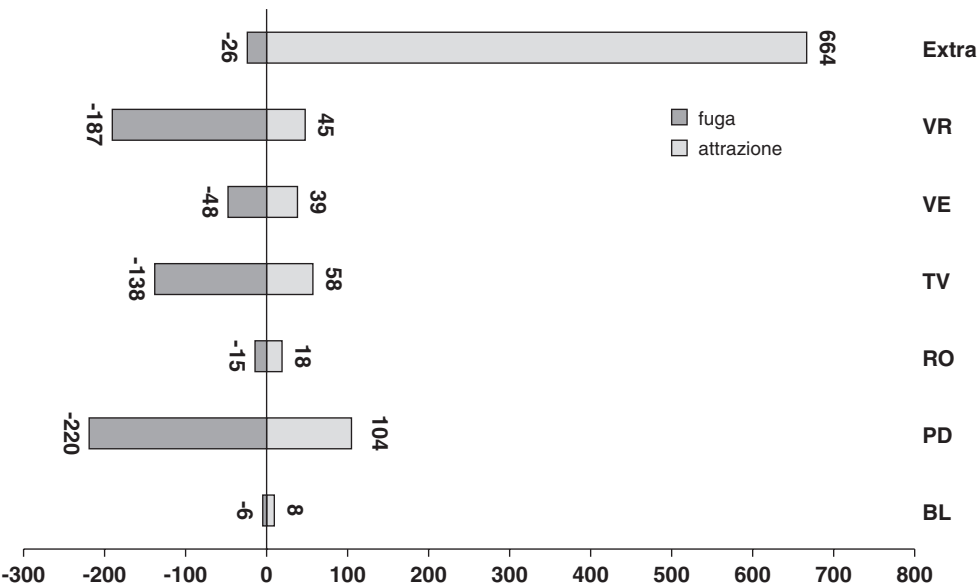


Fig. 20: Flussi migratori: Verona

