

24 gennaio 2021

8. I bambini possono attivare una risposta immunitaria a SARS-CoV-2 senza conferma virologica dell'infezione:

l'immunità pediatrica può prevenire l'instaurarsi dell'infezione ?

1-Premessa

I bambini sono prevalentemente contagiati da familiari sintomatici, hanno una malattia COVID-19 relativamente più lieve e fino a un terzo sono asintomatici (Posfay-Barbe KM 2020). Le basi immunologiche della malattia pediatrica in forma più lieve non sono chiare, ma utili indicazioni possono essere desunte dalle precedenti pandemie virali in cui sono state evidenziate notevoli differenze epidemiologiche legate all'età .

(Vedi sinossi #43 Ritorno al futuro: le lezioni apprese dalla pandemia influenzale del 1918

Nonostante nell'infezione da SARS-CoV-2, sono state dimostrate una ridotta espressione epiteliale respiratoria del recettore ACE2 e un'immunità innata addestrata nei bambini (Bunyavanich S, 2020, Zimmermann P, 2020), i dati sulle risposte immunitarie nei bambini esposti a SARS-CoV-2 sono limitati.

Tuttavia, dal mese di novembre, sono disponibili dati preziosi sull'immunità dei bambini grazie al lavoro minuzioso di [14 Dipartimenti di Pediatria australiani](#) che hanno svolto uno studio su tre bambini esposti ripetutamente a SARS-CoV-2 nella loro famiglia [che presentavano risposte immunitarie cellulari e mediate da anticorpi simili ai loro genitori infetti e specifiche per SARS-CoV-2, senza tuttavia una conferma virologica dell'infezione.](#) (Tosif S 2020)

2-Il contesto

Due genitori (madre di 38 anni e padre di 47 anni) residenti a Melbourne, hanno partecipato a un matrimonio durato 3 ore senza i loro figli, all'inizio di marzo 2020. Tornati a casa 3 giorni dopo hanno sviluppato tosse, corizza e febbri soggettive, seguite da letargia e cefalea per un totale di 14 (madre, A1) e 11 giorni (padre, A2) .Sette giorni dopo la comparsa dei sintomi dei genitori, il bambino 1 (maschio di 9 anni, C1) ha sviluppato una tosse lieve, corizza, mal di gola, dolore addominale e feci molli, e il bambino 2 (maschio 7 anni, C2) ha sviluppato una tosse lieve e corizza. Il terzo figlio (femmina 5 anni, C3) era asintomatico. Otto giorni dopo la comparsa dei sintomi dei genitori, sono stati informati di un focolaio emergente di SARS-CoV-2 riconducibile al matrimonio. I genitori risultarono positivi per SARS-CoV-2 PCR su tamponi nasofaringei (NP) prelevati lo stesso giorno, mentre i tamponi NP dei bambini sono risultati negativi per SARS-CoV-2. Le precauzioni di allontanamento fisico non erano praticabili in casa. Il bambino 3 aveva avuto contatti particolarmente stretti, dormendo nel letto dei genitori per tutto il periodo in cui entrambi i genitori non stavano bene.

Lo studio è stato approvato dall'Human Research Ethics Committee dell'Università di Melbourne per le indagini sui genitori e dal Tasmanian Health and Medical per quelle relative ai bambini. L'intero progetto ha ricevuto l'approvazione dal Comitato etico del Royal Children's Hospital Melbourne..

3-test Sara-CoV-2

-*Campioni seriali*, inclusi sangue, saliva, tamponi NP, feci e urina, sono stati raccolti da tutti i membri della famiglia circa ogni 2-3 giorni.

-*I sintomi giornalieri* venivano registrati in un diario standardizzato.

-*I tamponi nasofaringei* dei genitori nei giorni 8 e 12 risultarono positivi alla PCR SARS-CoV-2.

Tutti i campioni di NP, saliva e feci dei bambini erano *negativi* alla PCR per SARS-CoV-2.

I tamponi nasofaringei dei bambini sono risultati tutti *positivi* per il *rinovirus* da un pannello virale respiratorio multiplex in decima giornata.

4- Valutazione risposta immunitaria

-E' stata analizzata la *risposta immunitaria* nelle cellule mononucleate del sangue periferico (PBMC) di tutti i membri della famiglia nei giorni 12, 37 e 88 mediante *citometria a flusso*.

-Sia i genitori che i bambini presentavano alte proporzioni di cellule *T CD8* al giorno 12 che successivamente sono diminuite una diminuzione associata a un corrispondente aumento della proporzione di cellule T CD4 in tutti i campioni.

-Proporzioni sorprendentemente basse di *monociti* sono state osservate il giorno 12 in tutti i membri della famiglia, in particolare in C3 (0,12%) rispetto ai suoi fratelli (media 0,5%) e ai genitori (media 0,88%) .

I *monociti* sono tornati alle proporzioni circolanti in tutti i membri della famiglia entro il giorno 37 (media 4,1%) e il giorno 88 (media 2,5%).

Sono state osservate basse proporzioni di *monociti* in tutti i sottogruppi circolanti con riduzioni più evidenti nei sottogruppi CD16 +

-Entrambi i genitori hanno mostrato aumenti delle cellule *T CD8* della memoria centrale (T CM) ed effettrice (T EM) entro il giorno 88 e l'espressione delle cellule *T CD8* del marcatore di esaurimento *PD1* è aumentata nel tempo in tutti i membri della famiglia .

5-Valutazioni immunoematologiche

Sono state evidenziate ulteriori alterazioni nel *compartimento mieloide* nella nostra analisi del sangue intero. Basse proporzioni di *neutrofili* erano evidenti in tutti i membri della famiglia al giorno 12, in particolare in C3 (5,1%) rispetto ai suoi fratelli (media 10,4%) e ai genitori (media 15,5%)

-I *neutrofili circolanti* sono tornati a una media del 30,5% nei bambini e del 45,4% nei genitori entro l'88 ° giorno, un punto temporale associato alla comparsa di *neutrofili immaturi* a bassa densità (SSC hi CD16 + CD14 +/-) nelle PBMC di tutti i membri della famiglia .

-Il *genitore A1* e tutti i bambini avevano proporzioni elevate di eosinofili in tutti i punti temporali in linea con livelli elevati di eosinofili nei pazienti infetti da SARS-CoV-2 durante la fase di recupero.

Il loro ruolo rimane poco chiaro

-Le analisi hanno evidenziato che *le risposte immunitarie cellulari attive* nei membri della famiglia non erano accompagnate da un corrispondente aumento dei livelli di *citochine plasmatiche*, coerente con una lieve o assenza di sintomi.

-Sono state evidenziate *18 citochine plasmatiche* utilizzando un array di perline multiplex personalizzato e sono stati rilevabili solo IL-8, MCP-1 e CCL5 (RANTES) con i livelli che rimangono costanti nel tempo, escludendo C1 e C2 che hanno avuto un aumento di ~ 2 volte dei livelli di RANTES al giorno 37

6- Ricerca anticorpi SARS-CoV-2 nella saliva

Per esplorare le risposte immunitarie umorali specifiche di SARS-CoV-2, sono stati quantificati gli anticorpi salivari e plasmatici contro la *proteina S1* mediante ELISA. La saliva di tutti i membri della famiglia è risultata positiva agli *anticorpi IgA* contro la proteina S1 in tutti le fasi dello studio.

I bambini presentavano *anticorpi sierici* da bassi a non rilevabili mentre entrambi i genitori avevano forti risposte IgG sieriche fino al giorno 88.

7-Prove sierologiche dell'immunità SARS-CoV-2

Per caratterizzare ulteriormente se i bambini avevano presentassero una evidenza sierologia logica di immunità SARS-CoV-2 nonostante fossero negativi alla PCR, è stata condotta *un'analisi sierologica* dei sistemi utilizzando un pannello multiplex specifico per CoV con l'inclusione di ulteriori individui sani pre-pandemici di pari età. Tutti i membri della famiglia, compresi i bambini, hanno mostrato caratteristiche anticorpali specifiche per SARS-CoV-2 che differivano dai controlli pre-pandemici. Inoltre, entrambi i genitori, ma non i bambini, hanno avuto risposte sierologiche ad altri coronavirus non SARS-CoV-2

8-Discussione

I risultati salivari e sierologici combinati mostrano che, nonostante non ci siano prove virologiche di infezione, tutti e tre i bambini *hanno sviluppato risposte anticorpali contro vari epitopi SARS-CoV-2*. Dei tre bambini, C3, che è rimasto asintomatico per tutto il tempo, ha dimostrato la risposta anticorpale più robusta. La risoluzione dei sintomi in A2, C1 e C2 coincideva con un picco di IgA anti-S1 salivari, ma non di IgG.

Presumibilmente SARS-CoV-2 infetta le ghiandole salivari ed è rilevabile nella saliva.

Questi risultati, quindi, forniscono la prova che il controllo di SARS-CoV-2 nel sito di infezione può essere mediato da una *risposta anticorpale IgA della mucosa*.

Questo potenziale ruolo chiave per gli anticorpi della mucosa nella protezione merita conferma in studi più ampi.

La tempistica del test PCR SARS-CoV-2 si è verificata mentre 2 bambini su 3 erano sintomatici e su più campioni, riducendo la possibilità che avessero eliminato l'infezione prima del test. Sebbene il rinovirus sia stato identificato nel pannello respiratorio dei bambini, questa è un reperto comune riscontrabile in più contesti ospedalieri che suggerisce una esposizione recente.

9- Conclusioni

Questo studio sebbene limitato ad un contesto familiare apporta numerose informazioni sulle risposte immunologiche nei bambini esposti a SARS-CoV-2.

Nonostante lo stretto contatto con i genitori infetti, il test PCR per SARS-CoV-2 è stato ripetutamente negativo in tutti i bambini, che hanno sviluppato sintomi minimi o assenti. Tuttavia, i bambini avevano *risposte immunitarie cellulari e anticorpo-mediate specifiche per SARS-CoV-2 simili ai loro genitori*, suggerendo che i bambini erano infetti da SARS-CoV-2 ma, a differenza degli adulti, hanno sviluppato una risposta immunitaria altamente efficace capace di limitare la replicazione del virus.

Non è chiaro se in futuro questa famiglia sarà protetta dalla reinfezione con SARS-CoV-2, poiché solo un genitore ha dimostrato una robusta risposta anticorpale neutralizzante. Esiste tuttavia la possibilità che i bambini possano anche avere acquisito anche un certo grado di protezione. La discordanza tra i risultati della PCR virologica e le prove sierologiche cliniche, nonostante un'evidente risposta immunitaria, evidenzia le perplessità sulla sensibilità della PCR nasofaringea all'attuale sierologia diagnostica nei bambini.

Tutti i membri della famiglia sono guariti completamente senza bisogno di cure mediche

Riferimenti

-Posfay-Barbe KM et al. **COVID-19 in Children and the Dynamics of Infection in Families.** Pediatrics. 2020 Aug;146(2):e20201576.

-Bunyavanich S et al. **Espressione genica nasale dell'enzima 2 di conversione dell'angiotensina nei bambini e negli adulti.** JAMA. Doi 2020: 10.1001 / jama.2020.87079.

-Zimmermann P et al. **COVID-19 in bambini, gravidanza e neonati: una revisione delle caratteristiche epidemiologiche e cliniche.** *Pediatr. Infettare. Dis. J.* 2020; 39 : 469–477.

-Tosif S et al **Immune responses to SARS-CoV-2 in three children of parents with symptomatic COVID-19.** *Nat Commun.* 2020 Nov 11;11(1):5703.