

AIEOP

ASSOCIAZIONE ITALIANA DI EMATOLOGIA E ONCOLOGIA PEDIATRICA

GRUPPO DI STUDIO SULLE IMMUNODEFICIENZE PRIMITIVE

**MALATTIA GRANULOMATOSA CRONICA
RACCOMANDAZIONI PER LA DIAGNOSI E LA TERAPIA**

Versione aggiornata: 7 Aprile 2004

Coordinatore del Gruppo di Studio AIEOP
sulle Immunodeficienze Primitive:

Prof. Alberto G. Ugazio
Ospedale Bambin Gesù
Roma

Comitato scientifico:

Prof. L. Armenio (Bari)
Prof. M. Bonamico (Roma)
Prof. D. De Mattia (Bari)
Prof. M. Duse (Brescia)
Prof. G.L. Marseglia (Pavia)
Dott. B. Martire (Bari)
Prof. M. Masi (Bologna)
Prof. L.D. Notarangelo (Brescia)
Prof. G. Paolucci (Bologna)
Prof. A. Pession (Bologna)
Prof. M.C. Pietrogrande (Milano)
Prof. C. Pignata (Napoli)
Prof. A. Plebani (Brescia)
Dott. I. Quinti (Roma)
Prof. P. Rossi (Roma)
Prof. A. Stabile (Roma)
Prof. PA. Tovo (Torino)
Prof. A. Vierucci (Firenze)

Responsabili:

Prof. Domenico De Mattia
Dott. Baldassarre Martire
Dipartimento di Biomedicina dell'Età
Evolutiva
Università degli Studi di Bari

Data Review Committee:

Prof. Domenico De Mattia (BA)
Dott. Baldassarre Martire (BA)
Prof. Alessandro Plebani (BS)
Dott.ssa Annarosa Soresina (BS)
Dott. Roberto Rondelli (BO)

Raccolta-Gestione-Analisi
Statistica dei dati:

Centro Operativo AIEOP
Pad. 23
c/o Centro Interdipartimentale di Ricerche sul
Cancro "G. Prodi"
Via Massarenti, 9
40138 Bologna

CENTRI PARTECIPANTI

CODICE AIEOP	ISTITUZIONE	REFERENTE
0901	ANCONA Clinica Pediatrica Ospedale Salesi ANCONA Tel.071/36363 Fax 071/36281	Prof. Coppa Prof. P.Pierani
0311	ASOLA(MN) Divisione di Pediatria Ospedale di Asola Tel. 0376/721309 Fax 0376/720189	Dott.G.Gambaretto
1301	BARI Dipart. Biomed.dell'Età Evolutiva Clinica Pediatrica I P.zza G. Cesare 11 70124 BARI Tel. 080/5542295 Fax 080/5542290 e-mail: demattia@bioetaev.uniba.it baldo.martire@bioetaev.uniba.it	Prof. D. De Mattia Dott.B.Martire
1307	BARI Clinica Pediatrica III Università di Bari P.zza Giulio Cesare 11 70124 BARI Tel. 080/5592844 Fax 080/5478911 e-mail: fabiocardinale@libero.it	Prof. L. Armenio Dott. F. Cardinale
1306	BARI Dip.di Scienze Biomediche e Oncologia umana Sez. Medicina Interna Policlinico P.zza G. Cesare 11 70125 BARI Tel. 080/5478822-860 Fax 080/5478820	Prof. F. Dammacco Dott.ssa M. Prete
0603	BOLOGNA Clinica Pediatrica Via Massarenti 11 40138 BOLOGNA Tel. 051/6363649 Fax 051/6364679 e-mail: paolucci@almadns.unibo.it masi@med.unibo.it	Prof. G.Paolucci Prof. M. Masi Dott.ssa A. Miniaci
0605	BOLOGNA Div. Pediatria Ospedale "Maggiore" Largo Nigrisoli, 2 40133 BOLOGNA Tel. 051/6478564 Fax 051/6478949	Prof. G. Ambrosioni Dott.ssa P.Alvisi
0305	BRESCIA Clinica Pediatrica Spedali Civili P.le Spedali Civili, 1 25123 BRESCIA Tel. 030/3995887- 700 Fax 030/3388099 e-mail: plebani@med.unibs.it soresina@master.cci.unibs.it duse@master.cci.unibs.it notarang@med.unibs.it	Prof. L.D. Notarangelo Prof. A. Plebani Prof. M. Duse Dott.ssa A. Soresina

1602	CAGLIARI Centro TMO Ospedale Microcitemico Clinica Pediatrica Univ. Cagliari Via Jenner 09121 CAGLIARI Tel. 070/6095512 Fax 070/6095694 e-mail: fcossu@mcweb.unica.it	Prof. Cao Dott. F. Cossu
1603	CAGLIARI Allergologia e Immunol. Clinica Policlinico Universitario Via S. Giorgio 12 09124 CAGLIARI Tel.070/60286240 Fax 070/60286212 e-mail: manconip@pacs.unica.it	Prof. S. Del Giacco Prof. P. Manconi
1901	CAMPOBASSO Div. Pediatrica Ospedale Cardarelli ASL3 Centromolise Campobasso Località Tappino 86100 Campobasso Tel. 0874/4092272 Fax 0874/4092273	Dott. I. Evangelista
1401	CATANZARO Div. Ematologia Ospedale Civile "A. Pugliese" Viale Pio X 88100 CATANZARO Tel. 0961/883069/883205 Fax 0961/883250 e-mail saveriomagro@libero.it	Dott. S. Magro Dott. S. Morgione
1404	CATANZARO U.O. di Pediatria Univ. degli Studi di Catanzaro Ospedale Pugliese Viale Pio X 88100 CATANZARO Tel. 0961/ 883007 Fax 0961/883489/727305 e-mail pstrisciuglio@unicz.it elisa.anastasio@tin.it	Prof. P. Strisciuglio Dott.ssa E. Anastasio
1502	CATANIA Div. Ematologia-Oncologia Ped. Clin. Pediatrica Università Catania Via A. Doria, 6 95123 CATANIA Tel. 095/256497 Fax 095/330636/222532 e-mail: antoscio@hotmail.com	Prof. G. Schillirò Dott. ssa A. Sciotto
0312	COMO Divisione Pediatria Azienda Osped. "Sant' Anna" Via Napoleone 60 22100 COMO Tel. 031/5855353 Fax 031/5855948 e-mail: pediatria@hsacomo.org	Dott. Maurizio. Sticca
403	COSENZA U.O. Pediatria Ospedale "Annunziata" Via Migliori 1 87100 Cosenza tel.0984/681343 Fax 0984/681315 luicarp@libero.it	Dott.ssa M. Candusso Dott. L. Carpino
0701	FIRENZE	Prof. G. Bernini

	Dipart. di Pediatria Ospedale "A. Meyer" Via L. Giordano, 13 50132 FIRENZE Tel. 055/5662542 Fax 055/570380 e-mail: azzaric@unifi.it c.azzari@meyer.it	Dott.ssa C. Azzari
0202	GENOVA Seconda Divis. Pediatria Istituto G. Gaslini P.zza G. Gaslini 5 16147 GENOVA Tel. 010/5636428 FAX 010/3776590 e-mail: eliocastagnola@ospedale-gaslini.ge.it marcogattorno@ospedale-gaslini.ge.it	Dott. E. Castagnola Dott. M.Gattorno
0315	MANTOVA Pediatria Ospedale Poma Via Albertoni 1 46100 MANTOVA Tel. 0376/201454 Fax 0376/201772	Dott. G. Pastorelli Dott.ssa S. Fasoli Dr. Gambaretto
1504	MESSINA Genetica e Immunologia Pediatrica Az. "G.Martino" Via Consolare Valeria Gazzi 98100 MESSINA Tel. 090/2213114 e-mail: carmelo.salpietro@unime.it	Prof. C. Salpietro
0314	MILANO Clinica Pediatrica II Università di Milano Via Commenda 9 20122 MILANO Tel. 02/57992496 Fax 02/50320210 e-mail: mariacristina.pietrogrande@unimi.it	Prof.ssa MC. Pietrogrande Dott.ssa F. Rusconi Dott.ssa RM. DellePiane Dott.ssa Panisi
0316	MILANO Ist. Clinici Perfezionamento Div. Medicina Generale P.zza San Barnaba 8 20123 MILANO Tel. 02/57992672 FAX 02/57992659	Dott. G. Cambiaghi
0317	MILANO Dip. Medicina e Chirurgia Università di Milano Pol San Marco Corso Europa 7 24040 ZINGONIA-OSIO SOTTO Tel. 035/886308 FAX 035/886308 e-mail: maurizio.pietrogrande@unimi.it	Prof. M. Pietrogrande
0318	MILANO Un.di ricerca Clin Pediatrica HSR TIGET Istituto Scientifico HS Raffaele Via Olgettina 58 MILANO Tel. 02/26434668 Fax 02/26434671 e-mail: m.roncarolo@hsr.it a.aiuti@hsr.it	Prof.ssa MG. Roncarolo Dott. A. Aiuti
0302	MONZA Clinica Pediatrica Ospedale "S. Gerardo" Via Donizetti 106	Prof. G. Masera Prof. A. Biondi Dott.ssa A. Sala

	20052 MONZA Tel. 039/2333513 Fax 039/2301646 e-mail: masera@xquasar.it	
1207	NAPOLI Unità Specialistica di Immunologia Dipart. di Pediatria Univ. Studi di Napoli "Federico II" Via Pansini 5 80131 NAPOLI Tel. 081/664632 Fax 081/5451278 e-mail: pignata@unina.it	Prof. C. Pignata
1203	NAPOLI Divisione di Pediatria-Ematologia Ospedale "Pausilipon" Via Posillipo 226 80123 NAPOLI Tel. 081/2205410 Fax 081/2205418	Prof. V. Poggi Dott. G. Menna
1208	NAPOLI I Div. Med. Pediatrica Ospedale Santobono Via M. Fiore 6 80100 NAPOLI Tel. 081/2205636 Fax 081/2205608	Dott. R. Di Nardo
1209	NAPOLI Pediatria Ospedale S. Leonardo ASL NA5 Via Castellammare di Stabia 80054 GRAGNANO (NA) Tel. 081/8711782 Fax 081/8729341 e-mail: adapuzzo@libero.it	Dott. A. D'Apuzzo
1210	NAPOLI I Div. Pediatria Osp. SS. Annunziata Via Egiziaca A Forcella 80139 NAPOLI Tel. 081/2542504- 2600 Fax 081/2542635 antpelliccia@tiscali.it	Dott. A. Pelliccia
1204	NAPOLI II Pediatria Ospedale Annunziata ASLNA1 Tel. 081/2542544-634 Fax 081/2542635	Dott. A. Corra
1211	NAPOLI Centroperladiagnosi e cura ID prim. Immunologia e Allergologia Clinica Univ. Studi di Napoli "Federico II" Via Pansini 5 80131 NAPOLI Tel. 081/7462261, FAX 081/2203998 e-mail: spadaro@unina.it	Prof. G. Marone Dott. G. Spadaro
0401	PADOVA Clinica Oncoematol. Pediatrica Università di Padova Via Giustiniani 3 35128 PADOVA Tel. 049/8218003 FAX 049/8213510 e-mail: luigi.zanesco@unipd.it giuseppe.basso@unipd.it mariaacaterina.putti@unipd.it	Prof. L. Zanesco Prof. G. Basso Dott. MC. Putti

0410	PADOVA Dip. Medicina Clinica e Sperim. Immunologia Clinica Via Giustiniani 2 35128 PADOVA Tel. 049/8212299 FAX 049/8754179 e-mail: carlo.agostini@unipd.it	Prof. G. Semenzato Prof. C. Agostini
1505	PALERMO U.O. Clinica Pediatrica Via Benedettini 1 90100 PALERMO Tel. 091/6666038 - 6249 Fax 091/421630 e-mail: istped@mbox.unipa.it	Prof. GM. Amato
1501	PALERMO Oncoematologia Pediatrica Via Benedettini 1 90100 PALERMO Tel. 091/6666130-015 Fax 091/421630 e-mail: arico@ospedalecivicopa.org	Dott.M.Arico Dott.A.Trizzino
0601	PARMA Oncoematologia Pediatrica Dip. di Pediatria Az. Ospedaliera di Parma Via A. Gramsci 14 43100 PARMA Tel. 0521/702222/702210 Fax 0521/702360 e-mail: gcizzi@ao.pr.it pbertolini@ao.pr.it	Dott. G. Izzi Dott.ssa P. Bertolini
0319	PAVIA Clinica Pediatrica Policlinico "S.Matteo" P.le Golgi 2 27100 PAVIA Tel. 0382/502770-557-629 Fax 0382/527976 e-mail: gl.marseglia@smatteo.pv.it r.maccario@smatteo.pv.it	Prof. G. Rondini Prof. GL. Marseglia Prof.ssa R.Maccario Dott.ssa G. Bossi
0303	PAVIA Oncoematologia Pediatrica IRCCS, Policlinico San Matteo P.le Golgi 2 27100 PAVIA Tel.0382/502607 Fax 0382/501251 e-mail: f.locatelli@smatteo.pv.it	Dott. F. Locatelli Dott. M. Zecca
0903	PESARO U.O. Pediatria Neonatologia Az. Ospedaliera San Salvatore P.le Cinelli 4 61100 PESARO Tel. 0721/362310 Fax 0721/362311 e-mail: pediatria.ps@abanet.it	Dott. L. Felici
0703	PISA Clinica Pediatrica III Via Roma 66 56100 PISA Tel. 050/992840-2222 Fax 050/888622 e-mail: p.macchia@clp.med.unipi.it rita.consolini@clp.med.unipi.it	Prof. P. Macchia Dott.ssa R. Consolini Dott. C. Favre
0607	RIMINI Divisione Pediatria Ospedale "Infermi" Via Settembrini 11	Prof. V. Vecchi Dott.ssa P. Sacchini Dott.ssa G. Rinaldi

	47900 RIMINI Tel. 0541/705210 Fax 0541/705360	
1110	ROMA Div.ne di Immunoinfettivologia Ospedale Bambino Gesù P.zza S. Onofrio 4 00165 ROMA Tel. 06/68592508 Fax 06/68592508 e-mail: ugazio@opbg.net rossi@opbg.net livadiotti@opbg.net	Prof. A.G. Ugazio Prof. P. Rossi Dr.ssa Livadiotti
1107	ROMA Clinica Pediatrica Università Cattolica Sacro Cuore Largo Gemelli 8 00135 ROMA Tel. 06/30514348-4290 Fax 06/3051343 e-mail: iclpe@RM.unicatt.it	Prof. A. Stabile
1108	ROMA Ist. Clinica Pediatrica Università "La Sapienza" Viale Regina Elena 325 00163 ROMA Tel. 06/4404994 e-mail: margherita.bonamico@uniroma1.it giovanni.nigro@uniroma1.it	Dott. G.Nigro Prof.M.Bonamico
1109	ROMA Dipart. Medicina Clinica Università "La Sapienza" Viale dell'Università 37 00186 ROMA Tel. 06/49972036 Fax 06/49972037 e-mail: quinti@uniroma1.it	Prof.ssa I. Quinti Dr.ssa V. Guazzi
1111	ROMA Centro Interdisciplinare Pediatria Policlinico Tor Vergata Univ. Tor Vergata Viale Oxford 81 00133 ROMA tel.06/20900529 fax 06/20900530 e-mail:moschese@med.uniroma2.it	Prof. P.Rossi Prof. V.Moschese
0702	SIENA Dipart. Di Pediatria Univ. di Siena V.le Bracci 16 53100 SIENA tel. 0577/263415 fax 0577/263415 e-mail:pediatria@unisi.it	Prof. G. Morgese Dott. Acquaviva
0313	TREVIGLIO(BG) Div. di Pediatria Ospedale di Treviglio P.zza Ospedale 1 24047 TREVIGLIO (BG) Tel. 0363/424273 Fax 0363/424400	Dott. L. Re Dott. R. Cogliati
0408	TREVISO Div. Pediatrica Osped. Regionale Treviso Via Ospedale 7 31100 TREVISO Tel. 0422/322266 Fax 0422/322232 e-mail: gdezan@ulss.tv.it	Dott. G. De Zan Dott.ssa S.Strafella

0501	TRIESTE Clinica Pediatrica Ospedale Infantile "Burlo Garofolo" Via dell'Istria 65/I 34137 TRIESTE Tel. 040/3785342 Fax 040/3785494 e-mail: tamaro@burlo.trieste.it rabusin@burlo.trieste.it	Prof. P. Tamaro Dott. M. Rabusin
0105	TORINO Dip. Scienze Ped. e dell'Adolescenza Osp. Infantile Regina Margherita P.zza Polonia 94 10126 TORINO Tel. 011/3135798 Fax 011/ 3135517 e-mail: tovo@pediatria.unito.it silvana.martino@unito.it	Prof. PA. Tovo Dott.ssa S. Martino
0309	VARESE Clinica Pediatrica Università di Pavia Ospedale "F. Del Ponte" P.zza Biroldi 1 21100 VARESE Tel. 0332/285300- 299231-299390 Fax 0332/235904	Prof. L. Nespoli Dott.ssa M. Marinoni
0405	VENEZIA Dipart. Oncologia ed Ematologia Oncologica Ospedale P.F. Calvi Largo S. Giorgio 2 NOALE (VE) Tel. 041/5896221 Fax 041/5896259 e-mail: emanoale@tin.it	Prof. A. Porcellini
0409	VERONA Centro Fibrosi Cistica Ospedale Civile di Verona P.le Stefani 1 37126 VERONA Tel. 045/8072294 FAX 045/8072042 e-mail: giantonio.cazzola@mail.azosp.vr.it	Dott. GA. Cazzola

INDICE

1.	INTRODUZIONE	pag. 12
1.1	Che cos'è la Malattia Granulomatosa Cronica	
1.2	Biochimica e genetica della CGD	
1.3	Biologia molecolare della CGD	
1.3.1	CGD X-recessiva	
1.3.2	CGD autosomica recessiva	
1.3.3	Correlazione genotipo-fenotipo	
1.4	Come si manifesta la malattia	
1.5	Complicanze	
1.6	Criteri diagnostici per la CGD	
2.	PROTOCOLLO DIAGNOSTICO	pag. 21
2.1	Diagnosi	
2.2	Invio dei prelievi	
2.3	Criteri di inclusione	
2.4	Tipizzazione genetica	
3.	RACCOMANDAZIONI TERAPEUTICHE	pag. 25
3.1	Terapia farmacologica	
3.2	Norme comportamentali	
3.3	Vaccinazioni	
3.4	Indagini da eseguire all'esordio e durante il follow-up del paziente	
3.5	Trapianto di midollo osseo	
4.	TRATTAMENTO DEGLI EPISODI INFETTIVI	pag. 28
4.1	Accertamenti da eseguire ad ogni nuovo episodio infettivo	
4.2	Infezioni fungine	
4.3	Trattamento delle complicanze infettive	
4.3.1	Linfoadenite da Staphylococcus Aureus	
4.3.2	Ascesso epatico da Staphylococcus Aureus	
4.3.3	Polmonite da Burkolderia Cepacia	
4.4	Trattamenti complementari	
4.4.1	Corticosteroidi	
4.4.2	Trasfusione di concentrati granulocitari	
4.4.3	G-CSF	
4.4.4	Terapia genica	
5.	PREVENZIONE	pag. 35
5.1	Come identificare lo stato di portatore	
5.2	Diagnosi prenatale	

OBIETTIVO

Le raccomandazioni per la diagnosi e la terapia della Malattia Granulomatosa Cronica rientrano nel quadro di un disegno operativo che investe le “malattie orfane” come i deficit primitivi dell’immunità, teso ad individuare un approccio ottimale alla diagnosi e alla terapia dei pazienti.

La formulazione di raccomandazioni diagnostiche e terapeutiche comuni per tutto il territorio nazionale, e l’analisi dei risultati, potrà consentire una costante revisione e aggiornamento dei dati e l’offerta a tutti i pazienti di standard di assistenza omogenei e avanzati.

L’obiettivo è quello di:

- Definire criteri diagnostici univoci;
- Definire e applicare raccomandazioni terapeutiche aggiornate praticabili sul territorio nazionale a tutti i pazienti affetti da CGD;
- Registrare la storia naturale e le eventuali complicanze della malattia nonché gli effetti collaterali della terapia;
- Sulla base dei dati ottenuti, di eventuali sperimentazioni controllate e degli avanzamenti ottenuti anche da altri gruppi, modificare e aggiornare gli schemi terapeutici.

Nella prima parte viene presentato lo stato dell’arte sulla CGD sia da un punto di vista clinico che patogenetico.

Nella seconda parte vengono descritte le raccomandazioni diagnostiche e terapeutiche; *le indicazioni fondamentali sono identificate dal carattere corsivo.*

Nella terza parte vengono proposti suggerimenti sulla gestione degli episodi infettivi e delle complicanze dei pazienti affetti da CGD.

Nella quarta ed ultima parte viene trattato l’aspetto della prevenzione della malattia da un punto di vista genetico.

Queste ultime due parti del documento non vanno considerate indicazioni protocollari nè per la diagnosi nè per il trattamento, ma hanno lo scopo di fornire informazioni aggiornate sulla clinica, la diagnosi e la terapia della CGD.

1. INTRODUZIONE

1.1 Che cos'è la Malattia Granulomatosa Cronica?

La Malattia Granulomatosa Cronica, descritta per la prima volta nel 1957 contemporaneamente da B.H. Landing e R.A. Good, rappresenta un raro gruppo di alterazioni genetiche ereditarie che colpiscono il sistema immunitario caratterizzate dalla incapacità delle cellule fagocitiche (granulociti neutrofili e monociti) di uccidere i microorganismi fagocitati.

La causa è da ricondurre a mutazioni dei geni che codificano per l'enzima NADPH ossidasi indispensabile per l'attività microbica dei fagociti

La malattia colpisce in media 1 su 250.000 nati vivi.

I soggetti affetti vanno incontro a frequenti e gravi infezioni batteriche e fungine dal caratteristico aspetto granulomatoso delle lesioni infiammatorie nei preparati istologici, da cui prende il nome la malattia.

1.2 Biochimica e genetica della CGD

In condizioni di normalità, l'esposizione dei fagociti a germi opsonizzati determina una rapida attivazione metabolica, soprattutto dello shunt degli esoso-monofosfati che si accompagna ad un incremento fino a 100 volte del consumo di ossigeno e di glucosio ("respiratory burst").

Un ruolo fondamentale nel "burst respiratorio" è svolto dal sistema della nicotinamide-adenina-dinucleotide-fosfato ossidasi (NADPH ossidasi). Questo enzima è una flavoproteina di membrana che trasferisce elettroni dalla NADPH all'ossigeno molecolare (O_2) con formazione di ione superossido (O_2^-), che all'interno del fagosoma si trasforma poi in acqua ossigenata (H_2O_2) e ipoclorito (HOCl) ad opera rispettivamente della superossido dismutasi e della mieloperossidasi lisosomiale. Il killing dei microorganismi fagocitati è legato alla produzione di questi prodotti reattivi dell'ossigeno che danneggiano la membrana batterica.

Il complesso molecolare NADPH ossidasi è costituito da 4 subunità : due molecole, p22 *phox* (subunità alfa) e gp91 *phox* (subunità beta), che formano il complesso denominato citocromo b558, costitutivamente indovato sulla membrana cellulare e su quella di specifici granuli e vescicole secretorie del granulocita neutrofilo: questo complesso contiene due gruppi eme e due gruppi FAD necessari per il trasporto degli elettroni dall'NADPH citoplasmatico all' O_2 contenuto nel fagosoma. Altre due proteine, rispettivamente di 47 e 67 kDa, sono presenti esclusivamente nel citoplasma; una terza proteina, p40 *phox* presente nel citosol sembra essere coinvolta nella stabilizzazione del complesso p47/p67 *phox* nei fagociti a riposo. In seguito all'attivazione cellulare, che può essere indotta da una serie di stimoli (microorganismi o peptidi batterici opsonizzati, frazione C5a del complemento etc.) le vescicole secretorie si fondono con la membrana plasmatica del fagocita e ciò determina il passaggio del citocromo b 558 sulla membrana cellulare del fagocita. Nello stesso tempo anche le proteine citosoliche p47 e p67 *phox*, dopo essere state fosforilate, traslocano sulla membrana plasmatica, dove interagiscono con il complesso b558 determinando così il definitivo assemblaggio del complesso enzimatico NADPH in grado di svolgere la piena attività ossidasica.

Nel processo di traslocazione sono coinvolte altre proteine di basso peso molecolare "GTP-binding proteins" appartenenti alla famiglia *rac*: in particolare *rac 1*, che si lega al complesso delle

proteine citosoliche p47, p67 e p40 phox. Un'altra proteina di basso peso molecolare *rap 1 A* localizzata in associazione al citocromo b 558 sulla membrana dei granuli e delle vescicole secretorie, è coinvolta nella regolazione della attività ossidasica.

Nella CGD una delle proteine formanti la NADPH-ossidasi è assente, ridotta o funzionalmente difettiva. Questo fa sì che la fagocitosi avvenga normalmente ma il fagocita non è più in grado di produrre i metaboliti tossici dell'ossigeno e pertanto i microorganismi fagocitati sopravvivono all'interno delle cellule diventando peraltro difficilmente raggiungibili dagli anticorpi e dalla maggior parte degli antibiotici. La CGD può essere causata dal difetto di ciascuna delle quattro subunità proteiche e ciò spiega l'eterogeneità genotipica della malattia. (tabella 1).

Nel 60% circa dei casi la CGD è causata da una mutazione del gene che codifica per la subunità gp91 phox, localizzato sul braccio corto del cromosoma X (Xp21.1). Le varianti autosomiche recessive sono invece causate da mutazioni del gene per la subunità p22 phox che mappa sul braccio lungo del cromosoma 16 (16q24), circa il 5% dei casi, oppure dei geni per p47 phox o p67 phox che mappano rispettivamente sul braccio lungo del cromosoma 7 (7q11.23) e sul braccio lungo del cromosoma 1 (1q25) e che rappresentano rispettivamente il 25% e il 5% circa di tutti i casi di CGD. Non sono note mutazioni a carico della componente p40 phox.

È nota inoltre la presenza di varianti (+) e (-) per ciascuna delle subunità proteiche gp91 e p22 phox causate da mutazioni che lasciano intatta la proteina ma ne aboliscono l'attività enzimatica (+) o che determinano una ridotta espressione proteica con residua attività funzionale (-).

Tabella 1: Classificazione della Malattia Granulomatosa Cronica

Proteina alterata	Cromosoma	Locus genico	Ereditarietà	Sottotipo^a (%)	NBT (% cell. Positive)	Produzione O₂⁻ (%)	Cyt. b (%)	Frequenza dei casi (%)
Gp91 phox	Xp21.1	CYBB	XR	X91 ⁰	0	0	0	55-60
				X91 ⁻	80-100 (debole)	3-30	3-30	5
				X91 ⁺	0	0	100	1-3
P22phox	16p24	CYBA	AR	A22 ⁰	0	0	0	~ 5
				A22 ⁺	0	0	100	~ 1
P47phox	7q11.23	NCF1	AR	A47 ⁰	0	0	100	25
P67phox	1q25	NCF2	AR	A67 ⁰	0	0	100	5

(Modificato da J.T Curnutte, Immunodef. Rev 1992; 3: 149)

^a La soprascritta indica che la proteina viene espressa in quantità normale (+), ridotta (-) o è assente (0).

1.3 Biologia molecolare della CGD

1.3.1 CGD X recessiva

Tutte le possibili mutazioni (più di 60), ad eccezione della conversione genica, sono state identificate a carico del gene CYBB. Delezioni ed inserzioni di questo gene sono presenti in circa il 35% dei pazienti XCGD, mentre singole sostituzioni nucleotidiche sono state evidenziate nel restante 65%; queste ultime possono essere suddivise in: mutazioni del sito di splicing (16%), mutazioni missense (23%), che causano una singola sostituzione amminoacidica e possono portare alla formazione di una proteina gp91 phox inattiva e mutazioni nonsense che causano una interruzione della sintesi proteica (27%). Quando le delezioni sono molto grandi anche i geni vicini al gene CYBB possono essere coinvolti; in questo caso i pazienti saranno affetti anche da altre sindromi come la distrofia muscolare di Duchenne, retinite pigmentosa e la sindrome di McLeod: anemia emolitica con acantocitosi dovuta alla delezione del gene che codifica per una proteina eritrocitaria di 37 Kda necessaria per l'espressione degli antigeni Kell.

1.3.2 CGD autosomica recessiva

Meno numerose sono le mutazioni identificate della forma autosomica recessiva; esse sono rappresentate da inserzioni, delezioni, mutazioni missense e del sito di splicing. Maggiore è l'eterogeneità del difetto molecolare della forma A67 rispetto a quella A47. Quest'ultima infatti risulta essere causata quasi sempre da una delezione GT (guanina-timidina) nell'esone 2 dovuta ad eventi di ricombinazione tra il gene p47 phox ed uno o più pseudo geni strettamente correlati.

1.3.3 Correlazione genotipo-fenotipo

I pazienti con CGD X-recessiva hanno generalmente un decorso clinico più grave di quelli con la forma autosomica-recessiva, a causa di una persistente residua attività NADPH ossidasi nei neutrofili dei pazienti A47⁰ e A67⁰. Ciò suggerisce un ruolo più critico del complesso di membrana b558 nel processo ossidativo di quanto non lo sia quello svolto dalle proteine citosoliche. Nel gruppo di pazienti con XCGD vanno distinti inoltre quelli con fenotipo X91⁰ e X91⁺ da quelli X91⁻. In via generale questi ultimi, avendo una attività ossidasi residua del 10-30%, hanno un decorso clinico migliore rispetto ai primi; ma ciò non è sempre vero, probabilmente perché entrano in gioco sistemi antimicrobici ausiliari ossigeno indipendenti. In genere le inserzioni, le mutazioni non sense e del sito di splicing portano ad un fenotipo X91⁰, mentre le mutazioni missense possono causare tutti e tre i fenotipi.

E' inoltre da ricordare che circa un terzo delle forme X-linked è causato da mutazioni *de novo*: in questi casi i test biochimici e di tipo genetico-molecolare risultano del tutto normali anche nelle presunte portatrici. Le portatrici obbligate invece possono occasionalmente presentare manifestazioni cliniche simili a quelle dei pazienti emizigoti. In genere questo accade quando per un fenomeno di lyonizzazione estrema le donne portatrici hanno un numero di fagociti normali inferiori al 10%. In questo caso è stato osservato che le portatrici presentano sempre mutazioni missense.

1.4 Come si manifesta la malattia?

Circa i due terzi dei pazienti affetti da CGD manifestano i segni di malattia entro i primi 2 anni di vita. Si è già accennato alla eterogeneità di espressione clinica della

malattia. La forma X recessiva ha generalmente un esordio più precoce di quella autosomica recessiva che in alcuni casi può anche manifestarsi in età adulta. Tutti gli organi possono essere interessati; tuttavia le infezioni più frequenti interessano i polmoni, i linfonodi e la cute (tabella 2 e 3).

Tabella 2: Localizzazione dei processi infettivi nella Malattia Granulomatosa Cronica

Molto frequenti (> 60%)	Frequenti (20-60%)	Sporadiche (< 20%)
Polmoni	Orecchio medio	Seni paranasali
Linfonodi	Sistema osseo	Apparato urinario
Cute	Regione perirettale	Sistema Nervoso Centrale e meningi
	Sistemica (setticemia)	Pericardio

Tabella 3

CGD : manifestazioni cliniche	% di casi
Dermatiti purulente	60-70
Otiti medie	15-20
Congiuntiviti	10-20
Sinusiti	<10
Stomatiti ulcerative	5-25
Polmoniti	70-80
Infezioni intestinali	5-15
Ascessi/ fistole perirettali	15-30
Infezioni delle vie urinarie	5-15
Linfoadenopatia	98
Linfoadenite	60-80
Epatosplenomegalia	50-90
Ascessi epatico/ periepatici	30-40
Sepsi	10-20
Osteomielite	20-30
Ascessi renali/perirenali	<10
Meningiti	<5
Ascessi cerebrali	<5
Pericarditi	<5
Corioretinite	<10
Gengiviti	50
Fibrosi polmonare	<10
Esofagiti	<10
Stenosi dell'antro gastrico	<10
Granulomatosi ileocoliche	<10
Glomerulonefriti	<10
Idronefrosi	10-25
Cistite granulomatosa	<10
Anemia	Comune
Ipergammaglobulinemia	60-90
Deficit ponderale	70
Bassa statura	50
Ritardata guarigione delle ferite	Comune
Lupus eritematoso discoide	Molto rara
Sindrome di McLeod	Estremamente rara

Caratteristiche peculiari dell'infezione sono l'elevata frequenza, il tipo di agente eziologico e l'evoluzione granulomatosa delle lesioni infiammatorie. Questi granulomi, costituiti da cellule giganti e macrofagi ripieni di lipidi, provocano distruzione dei parenchimi e determinano frequentemente stenosi del tratto gastrointestinale o urinario che richiedono rimozione chirurgica.

La diffusione dell'infezione è facilitata dal fatto che i leucociti, che hanno fagocitato ma non ucciso i microorganismi nella sede dell'infezione primitiva, possono di fatto trasportarla a distanza interessando rene, muscoli, pericardio, SNC ed altri organi.

Va segnalato che, a fronte dell'aspecificità del quadro clinico, alcune manifestazioni, quali le infezioni da Aspergillo, le piodermiti recidivanti, l'ascesso granulomatoso epatico, forme atipiche di tubercolosi e l'osteomielite delle ossa metatarsali resistente al trattamento, indirizzano fortemente il sospetto verso la diagnosi di malattia granulomatosa cronica. (tabella 4).

I pazienti possono inoltre presentare condizioni patologiche associate quali linfadenopatia, epato-splenomegalia, malassorbimento, idronefrosi, deficit di crescita e anemia microcitica dovuta allo stato di malattia cronica e che in genere si risolve spontaneamente alla fine della prima decade di vita.

I patogeni più frequentemente in causa sono: germi catalasi positivi, in grado di degradare la quota di H₂O₂ da essi stessi prodotta, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia Coli*, *Salmonella*, *Klebsiella*, vari ceppi di *Pseudomonas*, saprofiti quali *Serratia marcescens*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterobacter*, *Burkholderia Cepacia*, e funghi, soprattutto *Aspergillus* e *Candida* (tabella 5).

Tabella 4: Campanelli d'allarme che devono far pensare ad una Malattia Granulomatosa Cronica.

Infezione da Aspergillo a qualsiasi età.
Infezione da Serratia a qualsiasi età
Osteomielite
Linfadenite da Stafilococco
Ascesso epatico
Colite granulomatosa
Ostruzione delle vie aeree e/o digestive e/o urinarie da flogosi granulomatosa

Tabella 5: Spettro degli agenti infettivi in corso di CGD

MICROORGANISMI	% di isolati
Batteri Gram +	~ 40
Staphylococcus aureus	30-50
Staphylococcus epidermidis	5
Streptococcus	4
Nocardia	2
Actinomyces	<1
Batteri Gram -	~ 40
Escherichia Coli	5-10
Klebsiella	5-10
Salmonella	5-10
Serratia marcescens	5-10
Enterobacter	3
Proteus	3
Burkholderia cepacia	5-10
Chromobacterium violaceum	<1
Francisella philomiragia	<1
Funghi	~ 20
Aspergillus	10-20
Scedosporium	?
Candida albicans	3
Torulopsis	<1
Vari	
BCG	<1
Mycobacterium fortuitum	<1
Pneumocystis carinii	<1

I portatori di CGD sono di solito asintomatici con alcune importanti eccezioni: circa la metà dei portatori di X-linked soffre di stomatiti e gengiviti ricorrenti; mentre un quarto può sviluppare Lupus Eritematoso discoide sulla cute del viso, spalle, braccia e dorso, fenomeno probabilmente legato alla presenza di autoanticorpi verso frazioni antigeniche microbiche; tali lesioni in genere non progrediscono verso una forma sistemica.

1.5 Complicanze

Sono dovute alla ostruzione meccanica causata dalla evoluzione tipicamente granulomatosa delle lesioni infiammatorie prevalentemente a carico dell'apparato gastroenterico ed urinario, con conseguente stenosi pilorica, flogosi cronica intestinale, idronefrosi, stenosi uretrale, cistite granulomatosa.

1.6 Criteri diagnostici per la CGD (stabiliti da ESID e PAGID, 1999)

Diagnosi definitiva:

Maschio o femmina con NBT o "burst respiratorio" alterato in neutrofili attivati (valore inferiore al 5% del controllo) e con almeno una delle seguenti condizioni:

- 1) Mutazione della gp91, p22, p47, p67 phox
- 2) mRNA assente per uno dei suindicati geni mediante analisi Northern Blot.
- 3) Cugini materni, zii o nipoti con NBT o burst respiratorio alterato

Diagnosi probabile:

Maschio o femmina con NBT o burst respiratorio alterato in neutrofili attivati (valore inferiore al 5% del controllo) e con almeno una delle seguenti condizioni:

- 1) Ascenso epatico, perirettale o polmonare, linfadenite o osteomielite dovute a Stafilococco, Serratia marcescens, Candida o Aspergillo.
- 2) Granulomatosi diffusa a carico dell'apparato respiratorio, gastrointestinale o urogenitale
- 3) Arresto della crescita e epatosplenomegalia o linfadenopatia.

La diagnosi differenziale deve essere posta con:

- 1) Deficit di adesione leucocitaria (LAD)
- 2) Sarcoidosi
- 3) Sindrome da iper-IgE

2. PROTOCOLLO DIAGNOSTICO

2.1 Diagnosi

Quando si sospetta la Malattia Granulomatosa Cronica la diagnosi la si pone dopo avere evidenziato un difetto della attività dei granulociti con uno dei seguenti tests:

- **Test del nitro blue tetrazolium (NBT).** *E' un test semiquantitativo. In condizioni normali, in presenza di superossido, il NBT che ha un colore giallo e solubile, viene ridotto a formazano, reagente blu scuro ed insolubile che precipita nelle cellule fagocitiche precedentemente attivate con acetato di forbolo-miristato (PMA), con particelle opsonizzate con Zimosan (OPZ) o con N-formil-methionil-fenilalanina (fMLP). Nel caso di un paziente con CGD non si forma il superossido e pertanto non avviene la riduzione del nitro blue tetrazolium a formazano.*
- **Citofluorimetria a flusso con diidrorodamina 123 (DHR).** *E' un test quantitativo. Si basa sull'impiego del DHR come substrato fluorescente rivelatore dell'attività ossidasica. Questo test ha il vantaggio di una elevata sensibilità e può essere eseguito sul sangue in toto anche a distanza di 24 ore dal prelievo. In molti laboratori questo test ha sostituito l'NBT.*
- **Test del CITOCROMO "C".** *E' un test quantitativo. Si basa sulla riduzione del ferricitocromo C da parte del superossido prodotto dai neutrofili e monociti stimolati con PMA. La riduzione del ferricitocromo "C" viene misurata in spettrofotometria a 550 nm.*
- **Chemiluminescenza.** *E' un test quantitativo. Sfrutta la capacità dei fagociti stimolati di interagire con substrati ossidabili che, tornando allo stato energetico di partenza emettono luce, misurabile per mezzo di uno scintillatore beta in fase liquida.*

La scelta di uno dei test sopra riportati dipende dalla esperienza acquisita dal centro che già vede questi pazienti e che quindi ha già sviluppato un test diagnostico attendibile.

Nel caso di centri ospedalieri nei quali non vi è la possibilità di eseguire nessun test di laboratorio per la diagnosi di CGD, sono stati identificati dei laboratori di riferimento (vedi elenco sotto) sul territorio nazionale, dove è possibile inviare dei campioni di sangue per la diagnosi di CGD. In questi centri di riferimento la diagnosi di CGD verrà posta con la metodica di citofluorimetria a flusso con diidrorodamina.

2.2 Invio dei prelievi

I centri che alla riunione del 14 dicembre 2000 avevano dato la loro disponibilità ad eseguire il test alla diidrorodamina 123 come test di diagnosi di CGD, sono stati successivamente contattati e 5 di questi centri hanno affermato di avere già allestito la metodica, di eseguirla routinariamente sui loro pazienti e di essere disponibili a fare da centro di riferimento diagnostico sul territorio nazionale. Pertanto, ad ognuno di questi centri sono stati inviati, a temperatura ambiente, tramite corriere che garantiva la consegna dei campioni entro 24 ore, campioni di sangue di soggetti

affetti da CGD, delle loro madri e di soggetti normali al fine di verificare la riproducibilità dei risultati.

I risultati ottenuti si sono dimostrati riproducibili ed attendibili per la diagnosi di malattia ma non per l'identificazione dello stato di portatore di malattia. Pertanto, al momento, si ritiene che si possano inviare i campioni, per la diagnosi di malattia, ai Centri sottoelencati. Per la diagnosi di portatore si dovranno attendere i risultati di ulteriori studi di standardizzazione che verranno avviati nei tempi più brevi.

Ovviamente i centri che deciderranno di eseguire anche l'identificazione dello stato di portatore con questa metodica lo potranno fare autonomamente al di fuori delle raccomandazioni.

BARI

*Prof. D. De Mattia
Dipart. Biomedicina dell'Età Evolutiva
Clinica Pediatrica I
P.zza G. Cesare 11
70124 BARI
Tel. 080/5478906
Fax 080/5592290
e-mail: demattia@bioetaev.uniba.it*

BRESCIA

*Prof. A. Plebani
Clinica Pediatrica
Spedali Civili
P.le Spedali Civili,1
25123 BRESCIA
Tel. 030/3995715
Fax 030/3388099
e-mail: plebani@master.cci.unibs.it*

FIRENZE

*Dott.ssa C. Azzari
Dipart. di Pediatria
Ospedale "A. Meyer"
Via L. Giordano, 13
50132 FIRENZE
Tel. 055/5662416
Fax 055/570380
e-mail: ematoncped@cesit1.unifi.it*

NAPOLI

*Prof. C. Pignata
Unità Specialistica di Immunologia
Dipart. di Pediatria
Univ. Studi di Napoli "Federico II"
Via Pansini 5
80131 NAPOLI
Tel. 081/7464340
Fax 081/5451278
e-mail: pignata@unina.it*

ROMA

Prof. P. Rossi

Dott.ssa S. Di Cesare
 Laboratorio Immunologia
 e Biotecnologie molecolari
 Dipartimento Sanità Pubblica
 e Biologia cellulare
 Università Tor vergata
 Torre E Nord, sesto piano
 Via di Tor Vergata, 135
 00133 ROMA
 Tel. 06/72596825
 e-mail: rossi@opbg.net

ROMA

Dott.ssa I. Quinti
 Dott. Iacobini
 Dipart. Medicina Clinica
 Università "La Sapienza"
 Viale dell'Università 37
 00186 ROMA
 Tel. 06/49972036
 Fax 06/49972037
 e-mail: quinti@uniroma1.it

L'invio da parte del centro richiedente a uno dei centri accreditati del campione di sangue sul quale eseguire la citofluorimetria a flusso con diidrorodamina per la diagnosi di CGD deve avvenire previo accordo telefonico.

Per questo accertamento è necessario inviare

- *una provetta contenente 7 cc di sangue eparinati del paziente. Si raccomanda inoltre di includere anche una provetta contenente 7 cc di sangue eparinati di un soggetto normale che funge da controllo interno.*
- *l'invio dei campioni dovrà essere accompagnato dal modulo A debitamente compilato e avverrà tramite il servizio TRACO 10 che garantisce la consegna dei campioni entro le ore 10 del giorno seguente. Si segnala la necessità di analizzare immediatamente il campione non appena ricevuto al fine di avere risultati attendibili.*
- *I risultati del test verranno comunicati dal laboratorio al medico richiedente per iscritto (fax o e-mail) entro 48 ore.*

2.3 Criteri di inclusione

La diagnosi di CGD viene posta nei soggetti di sesso maschile e femminile con difettiva attività metabolica dei granulociti ad uno dei test diagnostici precedentemente menzionati.

Per i pazienti che soddisfano questi criteri andrà compilata la scheda di registrazione (Mod.1.03) e la scheda di diagnosi (Mod.22.01); in seguito, andranno compilate le schede di follow-up annuale (Mod. 22.02), tutte da inviare al Centro Operativo AIEOP di Bologna.

2.5 Tipizzazione genetica

Nel corso del primo anno di attività non è prevista l'analisi di mutazione dei geni-malattia.

3. RACCOMANDAZIONI TERAPEUTICHE

Una volta posta la diagnosi di CGD il primo provvedimento terapeutico da attuare consiste nel prevenire le infezioni.

La prevenzione si attua attraverso le seguenti misure:

- 1) Terapia farmacologica*
- 2) Osservanza di norme comportamentali*
- 3) Vaccinazioni*

3.1 Terapia farmacologica

Ha lo scopo di prevenire le infezioni batteriche e fungine e va eseguita con:

Cotrimossazolo: 6-8 mg/Kg/die di trimetoprim per os in una o due somministrazioni fino ad un massimo di 160 mg di trimetoprim al giorno. Nel caso di allergia ai sulfamidici si può utilizzare la dicloxacillina alla dose di 25-50 mg/Kg/die per os, in 4 somministrazioni. Il cotrimossazolo è controindicato nei soggetti con deficit di G6PD.

Itraconazolo: 10 mg/Kg die per os in unica somministrazione giornaliera (fino ad una dose massima di 200 mg/die)

Interferon γ : 50 μg /m² in pazienti con superficie corporea > 0,5 m² ; 1,5 mcg/kg/dose in pazienti con superficie corporea <0,5 m². Il farmaco va somministrato per via sottocutanea per tre giorni la settimana (es. lunedì, mercoledì, venerdì).

- Effetti collaterali: febbre, cefalea, brividi, artromialgie, astenia, nausea, vomito e rash cutanei.*
- Questi effetti sono generalmente ben controllati dalla premedicazione con paracetamolo (10-15 mg/kg/dose per os, 30-60 minuti prima della somministrazione del farmaco) o nimesulide alla dose di 2 mg/Kg fino ad un massimo di 100 mg. La nimesulide non va somministrata nei soggetti di età < ai 12 anni.*

In alcuni pazienti l'interferon γ può indurre la comparsa di autoanticorpi, fattore reumatoide, sviluppo di LES, leucopenia e piastrinopenia.

- Controindicazioni all'impiego dell'interferon γ : malattie autoimmuni, sindromi depressive*

3.2 Norme comportamentali.

L'osservanza delle seguenti norme comportamentali è di estrema importanza per la prevenzione delle infezioni:

- Prestare attenzione all'igiene personale; utilizzare saponi leggeri; lavare i denti due volte al giorno con perossido di idrogeno e pasta dentifricia al bicarbonato; usare collutorio per ridurre la possibilità di gengiviti.
- Evitare di bere alcolici e di fumare (il tabacco contiene Aspergillo).
- Prevenzione della stipsi.
- Evitare granai, grotte e altre aree polverose o umide (Aspergillo).
- Per evitare l'inalazione di una ingente quantità di funghi, si consiglia di non lavorare in ambienti con muffa, fieno, schegge di legno, erba tosata e altri scarti di erba o legna che appaiano marci o con funghi.
- Assumere antibiotici prima e dopo qualsiasi trattamento ortodontico.
- Lavare profondamente ogni taglio o abrasione con acqua e sapone, proseguire con un antisettico ed infine risciacquare con perossido di idrogeno; qualsiasi arrossamento o irritazione attorno all'area interessata, presenza di pus o febbre, deve essere comunicata al proprio medico al suo primo manifestarsi.
- E' sconsigliabile camminare a piedi nudi.
- Non utilizzare campi da gioco con trucioli di legno ma con superficie liscia o ghiaia.
- Se si pratica del giardinaggio cercare di indossare una mascherina per filtrare l'aria.
- Evitare di piantare piante in casa, la muffa spesso cresce nel terreno.
- Se si posseggono fiori freschi, aggiungere un cucchiaino di candeggina che riduca la formazione di muffa o alghe.
- Evitare di abitare in vecchi palazzi o in palazzi appena costruiti o restaurati prima che siano stati accuratamente puliti.
- Non sollevare o spostare tappeti o mattonelle; pulire a fondo gli ambienti prima di abitarli o dormirci.
- Gli animali domestici sono tollerati ma non utilizzare segatura per la lettiera; assicurarsi che anch'essi siano in regola con le vaccinazioni dovute; mantenere pulita l'acqua nelle ciotole e la lettiera.
- Se si è soliti usufruire di un vaporizzatore, svuotarlo quotidianamente e lavarlo con candeggina per evitare la muffa.
- Informare immediatamente il proprio medico in caso di febbre soprattutto se accompagnata da tosse.

3.3 Vaccinazioni

La malattia granulomatosa cronica non costituisce controindicazione alla somministrazione dei vaccini inseriti nel normale calendario vaccinale. E' consigliabile in questi soggetti anche la somministrazione della vaccinazione antiinfluenzale ogni anno, l'anti pneumococcica e l'anti meningococcica.

3.4 Indagini da eseguire all'esordio e durante il follow up del paziente:

Ogni 6 mesi:

- emocromo +formula leucocitaria
- transaminasi
- azotemia, creatinina
- VES, PCR
- FAN
- Anticorpi antiaspergillo (con titolo)

Ogni anno:

per il monitoraggio dei danni d'organo specifici:

- Rxgrafia
- Ecografia
- TAC e/o RMN
- Prove spirometriche

Ogni 2 anni:

TAC polmonare ad alta risoluzione

3.5. Trapianto di Midollo Osseo

I limiti del trattamento convenzionale sono:

- mancanza di una perfetta compliance alla profilassi farmacologica per tutta la vita;
- difficoltà a prevenire le sequele infiammatorie delle infezioni;
- ridotta qualità di vita a causa delle frequenti ospedalizzazioni e dei danni d'organo permanenti.

Circa il 30% dei pazienti va incontro ad exitus per complicanze infettive.

Allo stato attuale l'unica possibilità di guarigione definitiva è offerta dal Trapianto di Midollo Osseo: questo deve essere preso in considerazione soprattutto per i pazienti affetti da CGD, X-recessiva, già al momento della diagnosi, laddove sia disponibile un donatore familiare HLA-identico .

4. TRATTAMENTO DEGLI EPISODI INFETTIVI

- Ogni episodio infettivo è potenzialmente pericoloso, per cui è necessario fare ogni sforzo per isolare il microorganismo in causa, con particolare attenzione all'Aspergillo.
- Ogni episodio febbrile va trattato con tempestività e aggressività utilizzando farmaci in grado di attraversare la membrana cellulare del fagocita e di concentrarsi all'interno delle cellule (vedi tabella 6).
- La terapia iniziale di tipo empirico deve prevedere l'associazione di almeno due antibiotici attivi su Gram+ e Gram- (vedi tabella 7).
- La terapia deve essere proseguita per settimane o mesi anche in presenza di un significativo miglioramento degli indici di flogosi e delle condizioni cliniche del paziente, per eradicare completamente l'infezione.

Tabella 6: Rapporto tra concentrazione intra (I) ed extra (E)-cellulare degli antibiotici nei PMN neutrofilii

ANTIBIOTICO	I/E nei PMN
Penicillina G	0.4
Gentamicina	1
Isionazide	1.5
Fosfomicina	2
Cloramfenicolo	2.6
Trimetoprim	4
Clindamicina	11
Eritromicina	13.3
Rifampicina	14
Azitromicina	40
Teicoplanina	60

(modificato da: Il Bambino Immunodepresso, A.Ugazio et al)

Farmaci attivi su Gram+ (Es. Stafilococco aureo):

Teicoplanina: 6 mg/kg e.v. ogni dodici ore per i primi 2 giorni (posologia di attacco), continuare con la stessa dose in monosomministrazione giornaliera. Effetti collaterali: ototossicità, segnalata la comparsa di anticorpi anti Fattore VIII.

Claritromicina: 15 mg/kg/die e.v. in 2 somministrazioni. Effetti collaterali: disturbi gastrointestinali ed epatotossicità.

Rifampicina : 20 mg/kg/die e.v. in monosomministrazione. Non superare la dose massima di 600 mg/die. Monitorare gli indici di funzionalità epatica in corso di trattamento per la possibile epatotossicità del farmaco.

Farmaci attivi su Gram-:

Fosfomicina: 200 mg/kg/die e.v. in 3-4 somministrazioni.

Ciprofloxacina: 15 mg/kg/die e.v. in 2 somministrazioni. E' un farmaco chinolonico che può causare danni alle cartilagini articolare nei pazienti in età pediatrica. Il trattamento va sospeso in caso di dolore e/o edema del tendine di Achille (possibile rottura) e in caso di comparsa di diarrea grave e persistente (possibile insorgenza di colite pseudomembranosa).

Tabella 7: Modalità di trattamento degli episodi infettivi

Modalità	Indicazioni	Durata	Farmaco	Posologia
Terapia antibiotica	Infezioni da Gram +	Mesi	Rifampicina Claritromicina	20 mg/kg/die 15 mg/kg/die
	Infezioni da Gram –	Mesi	Ciprofloxacina Fosfomicina	15 mg/kg/die 200 mg/kg/die
	Infezioni fungine	Almeno 6 mesi	Amfotericina B liposomiale	1-3 mg/kg/die
Trasfusione di granulociti	Infezioni resistenti	Fino a risoluzione	Leucociti stimolati con G-CSF+ Desametaz.	1 Unità / 10 Kg
Trattamento antiinfiammatorio	Granulomi ostruenti	7-10 gg →scalare	Prednisone	0.5-1 mg/kg/die

4.1 Accertamenti da eseguire ad ogni nuovo episodio infettivo

1. Indici di flogosi: esame emocromocitometrico, VES, PCR, immunoglobuline sieriche. La leucocitosi neutrofila, l'aumento della VES, della PCR e l'ipergammaglobulinemia rappresentano anche un marker utile per il monitoraggio dell'infezione e della risposta alla terapia.
 2. Indagini colturali: emocoltura, urinocoltura, coprocoltura, coltura da siti infetti, coltura da essudati o trasudati; esame colturale dell'espettorato o del liquido di lavaggio broncoalveolare.
- N.B.** Le indagini colturali vanno sempre associate alla richiesta di antibiogramma.

3. Indagini strumentali: RX grafia, ecografia, TAC, RMN etc.

In caso di linfadenite e/o ascesso epatico eseguire un agoaspirato ecoguidato.

L'esame biotico può rendersi a volte necessario per la corretta identificazione dell'agente eziologico.

4.2 Infezioni fungine

L'infezione da Aspergillo rappresenta l'evento più temibile ed è la prima causa di morte nei pazienti con CGD. Gli agenti più frequenti sono l' *Aspergillus Fumigatus* e l' *Aspergillus Flavus*, ma anche altre specie possono causare Aspergillosi.

Gli organi più colpiti sono polmone, ossa, muscoli e cervello. La diagnosi si basa su:

1. Evidenza clinica e radiologica dell'infezione.
2. Isolamento e identificazione dell'Aspergillo su campioni colturali (espettorato, liquido di lavaggio broncoalveolare); raramente l'emocoltura risulta positiva anche in corso di Aspergillosi disseminata.
3. La biopsia dell'organo colpito è spesso necessaria per la diagnosi.
4. Ricerca di anticorpi di classe IgM e IgG anti Aspergillo mediante immunofluorescenza, immunodiffusione o ELISA. Sono state inoltre messe a punto tecniche di ricerca dell'antigene mediante immunoblotting, ELISA, test radioimmunologico e PCR, eseguibili solo in laboratori altamente specializzati.

Nel caso sia identificata o fortemente sospettata un'infezione fungina il trattamento prevede l'impiego di:

Amfotericina B

Svolge azione fungicida verso *Candida* ed *Aspergillo* legandosi all'ergosterolo, una proteina delle parete cellulare fungina, causandone rottura e conseguente lisi cellulare.

Preparazione della soluzione: il flacone contenente 50 mg di Amfotericina B deve essere sciolto con 10 ml di acqua distillata sterile agitando fino ad ottenere una soluzione limpida; la soluzione deve essere ulteriormente diluita con 490 ml di destrosio al 5% con pH > 4.2 in maniera da ottenere una concentrazione di Amfotericina B pari a 0,1 mg/ml.

Tutte le operazioni per la preparazione della soluzione per la fleboclisi devono essere effettuate in rigorosa asepsi.

Posologia:

- 1° giorno: dose test di 0.25 mg
- 2° giorno: 0.25 mg/Kg/die
- 3° giorno: 0.5 mg/Kg/die
- 4° giorno: 0.75 mg/Kg7die
- 5° giorno e seguenti: 1 mg/Kg/die.

La somministrazione deve avvenire lentamente per via endovenosa entro un periodo di tempo compreso tra le 2 e le 6 ore e la preparazione deve essere tenuta al riparo dalla luce durante l'infusione.

Il trattamento deve essere continuato per mesi; un periodo più breve di terapia può dar luogo a recidive. E' possibile dopo 4-6 settimane discontinuare la terapia a giorni alterni.

L'amfotericina B non passa la barriera ematoencefalica; ciò rende necessaria la somministrazione per via intratecale nel caso in cui l'infezione fungina interessi il sistema nervoso centrale, in questo caso la soluzione di Amfotericina B preparata come indicato precedentemente (alla concentrazione di 0.1 mg/ml) va diluita 1:10 con soluzione glucosata al 10%, a questa concentrazione (0.01 mg/ml)viene somministrata intrarachide 2 volte la settimana con il seguente schema:

- 1° giorno: 0.025 mg
 - 2° giorno: 0.05 mg
 - 3° giorno: 0.075 mg
 - 4° giorno: 0.1 mg
- se necessario si può continuare con:
- 5° giorno:0.25 mg
 - 6° giorno: 0.5 mg (dose massima praticabile)

Interazioni : esiste una sinergia tra 5 Fluoro-citosina e Amfotericina B. La associazione con questo farmaco consente di ridurre le dosi dell' Amfotericina B e quindi la sua tossicità.

I Corticosteroidi possono aumentare l'ipokaliemia indotta dall'amfotericina B.

Sono state inoltre riportate reazioni polmonari acute in pazienti ai quali era stata somministrata Amfotericina B durante o subito dopo trasfusioni leucocitarie. Per questo motivo è consigliabile separare queste infusioni e monitorare la funzionalità polmonare.

Effetti collaterali:

-precoci: reazioni generali (brividi, febbre, nausea, vomito, artromialgie, epigastralgie), reazioni locali (tromboflebite chimica)

-tardivi: nefrotossicità di vario grado con possibile acidosi tubulare renale e ipokaliemia, convulsioni, aritmie, reazioni ipo-ipertensive, alterazioni della crasi ematica, epatotossicità.

Trattamento delle reazioni indesiderate:

le reazioni precoci possono essere minimizzate

- 1) riducendo la velocità di infusione,
- 2) somministrando piccole dosi di eparina per ridurre gli eventi tromboflebitici
- 3) somministrando salicilati (20 mg/Kg) o idrocortisone (10 mg/Kg) prima dell'infusione di Amfotericina B.

L'ipokaliemia da Amfotericina B può essere prevenuta con una buona idratazione e la somministrazione di sali di potassio 2 mEq/Kg/die per via orale o parenterale.

Esami da eseguire durante la terapia: indici di funzionalità renale, elettroliti sierici, esame delle urine ed esame emocromocitometrico.

L'elevata tossicità del farmaco rende a volte impossibile la sua somministrazione, in questi casi è disponibile una formulazione di Amfotericina B veicolata con mezzo lipidico (liposomi) assai meno tossica.

Amfotericina B liposomiale (Ambisome, Amphocil 50: fl 50 mg)

Rispetto alla semplice Amfotericina B la formulazione liposomiale ha una maggiore captazione a livello di fegato e milza e una minore a livello renale e del polmone; è meno tossica e penetra meglio nei tessuti grazie all'ingestione da parte dei macrofagi.

Posologia: 1-3 mg/kg/die e.v. in monosomministrazione per almeno 3 mesi; discontinuare il trattamento a giorni alterni per altri 3 mesi; in seguito itraconazolo per os per tutta la vita.

Preparazione:

1. aggiungere alla fiala 12 ml di acqua sterile per iniezioni per ottenere una preparazione contenente 4mg/ml di Amfotericina.
2. diluire, utilizzando il filtro da 5 micron annesso, la quantità totale da infondere con destrosio al 5% fino ad ottenere una diluizione di 0,5 mg/ml di Amfotericina.
3. Infondere endovena in 30-60 minuti.

Il farmaco è in genere è ben tollerato e non dà luogo ad effetti collaterali di rilievo. Si consiglia di monitorare la diuresi e la funzionalità renale in corso di trattamento.

Voriconazolo: (UK-109,496) (Pfizer Central Research, Sandwich, England)

Può essere somministrato nel caso di scarsa risposta all'Amfotericina semplice o liposomiale. E' una nuova molecola triazolica ad ampio spettro, ad attività fungicida verso *Aspergillus*, *Candida Krusei* e *Candida glabrata*. Il Voriconazolo è stato utilizzato con successo come farmaco di seconda linea nella Aspergillosi invasiva in pazienti con AIDS e CGD. Tuttavia non ci sono allo stato attuale studi clinici controllati che ne abbiano valutato la efficacia e la sicurezza a lungo termine. Il farmaco non è in commercio in Italia; è fornito per uso compassionevole dalla ditta produttrice e deve essere utilizzato secondo un protocollo terapeutico, dopo aver ottenuto il consenso informato. (DA ELIMINARE)

4.3 Trattamento delle complicanze infettive

4.3.1 Linfoadenite da Staphylococcus aureus

- Incisione/ Drenaggio
- Rifampicina e Teicoplanina alle dosi precedentemente indicate.
- In caso di insuccesso: exeresi

4.3.2 Ascesso epatico da Staphylococcus aureus

- Agoaspirato eco-guidato;
- Rifampicina e Teicoplanina per mesi;
- In caso di insuccesso: Resezione della parete ascessuale;
Rivestimento della cavità ascessuale con omento;
Trasfusione di granulociti.

4.3.3 Polmonite da Burkholderia Cepacia

- Alte dosi di Cotrimossazolo: 20-100 (TMP/SMZ) mg/kg/die e.v. in 4 somministrazioni ;
- Trasfusione di granulociti.

4.3.4 Granuloma dell'apparato urinario

- Prednisone 0.5-1 mg/kg/die per dieci giorni; in seguito a scalare.
- In caso di insuccesso drenaggio interno (catetere Pig tail)

4.4 Trattamenti complementari

4.4.1 Corticosteroidi

La terapia corticosteroidica dovrebbe essere evitata a causa della immunosoppressione secondaria indotta, questo vale anche per l'uso di steroidi topici o per via inalatoria.

L'uso del prednisone nella CGD è tuttavia giustificato in alcune particolari situazioni dalla dimostrata efficacia nel ridurre l'entità delle lesioni granulomatose sintomatiche soprattutto a carico dell'apparato urinario, nonché i sintomi della malattia infiammatoria cronica intestinale correlata alla immunodeficienza.

A tal fine sono sufficienti piccole dosi di prednisone: 0.5-1 mg/kg/die per os in due somministrazioni per 7-10 giorni e successiva riduzione scalare per evitare la possibilità di recidiva.

4.4.2 Trasfusione di concentrati granulocitari

Possono essere utilizzati nel corso di infezioni gravi non responsive al trattamento farmacologico anche per somministrazione diretta nella cavità ascessuale dopo averla drenata. Vengono ottenuti da donatori volontari, dopo consenso informato, pretrattati con G-CSF 5 mcg/kg sottocute + Desametazone 8 mg per os. dodici ore prima della leucaferesi al fine di incrementare la quota granulocitaria.

Quantità da somministrare : 1 Unità ogni 10 Kg di peso.

È stato già ricordato come i pazienti affetti da CGD X-recessiva debbano eseguire trasfusioni con emoderivati Kell negativi, poichè la delezione del gene CYBB potrebbe interessare anche il locus Xk che controlla l'espressione degli antigeni kell sulla membrana eritrocitaria. Questi pazienti (con fenotipo McLeod) potrebbero quindi sensibilizzarsi in seguito a ripetute trasfusioni con emoderivati K⁺ e andare incontro a gravi reazioni trasfusionali.

4.4.3 G-CSF

In pazienti con CGDgp 91- che presentano una residua attività NADPH-ossidasi, si può utilizzare il fattore di crescita per i granulociti in corso di infezione acuta per migliorare il burst ossidativo dei fagociti.

Posologia: 5 mcg/kg/die s.c. Il trattamento va sospeso in caso di leucocitosi neutrofila (G.B.>50 x 10⁹/L) e/o piastrinopenia (PST< 100 x 10⁹/L).

Sono stati segnalati transitori episodi di ematuria, proteinuria, moderato aumento degli enzimi epatici e anemia.

4.4.4 Terapia genica

Sono stati di recente pubblicati i risultati di un trial clinico in fase 1 relativi alla trasfezione genica ex-vivo con vettori retrovirali di cellule staminali CD34⁺ di pazienti con CGD gp47phox⁰. I dati preliminari mostrano che con questa tecnica è possibile ottenere uno scarso numero di neutrofili ossidasi positivi (1:5000) e solo per un breve periodo di tempo (2-6 mesi).

Questa terapia potrebbe in futuro essere utilizzata nel corso di episodi infettivi acuti, in pazienti con CGD, in cui anche una modesta produzione di neutrofili geneticamente corretti può migliorare la risposta immunitaria.

5. PREVENZIONE

5.1 Come identificare lo stato di portatore

Tests funzionali

L'identificazione dei portatori della forma X-recessiva può essere eseguita ricercando la presenza di un pattern a mosaico di neutrofili ossidasi positivi e negativi mediante NBT test, citofluorimetria con diidrorodamina, oppure mediante ricerca della proteina gp91 phox. Tuttavia a causa del processo di inattivazione random del cromosoma X i portatori possono mostrare un pattern pressochè normale all'indagine eseguita con questi test.

L'identificazione dei portatori della forma autosomica recessiva è molto più difficile, poiché l'attività NADPH ossidasica ed anche l'espressione della p47, p67 e p22 phox risultano essere normali. In questi ultimi due casi si eseguirà

Analisi diretta della mutazione

Quando la mutazione è nota è possibile eseguire l'identificazione del portatore mediante l'amplificazione con PCR della regione del DNA genomico e successiva analisi di sequenza.

5.2 Diagnosi prenatale

La diagnosi prenatale di CGD richiede che sia stata definita in maniera certa la diagnosi nella famiglia. Ogni tecnica di diagnosi prenatale invasiva comporta un rischio di interruzione della gravidanza che seppur basso, è giustificato solo da una chiara dimostrazione che la famiglia è affetta dalla malattia. In ogni caso prima di procedere alla diagnosi prenatale è indispensabile che la coppia venga avviata alla consulenza genetica, nel corso della quale dovranno essere dettagliatamente illustrate le problematiche della malattia e le possibilità di cura attualmente disponibili.

In passato la diagnosi prenatale si basava sulla ricerca delle alterazioni biochimiche della malattia nei fagociti ottenuti da sangue di cordone mediante funicolocentesi prelevato alla 20a settimana di gestazione. Tale procedura tuttavia presenta un duplice svantaggio: fornisce dati in epoca già avanzata di gravidanza con ovvie implicazioni di carattere psicologico in caso di decisione di interruzione della gravidanza; comporta una difficoltà tecnica legata alla bassa concentrazione di granulociti neutrofili nel sangue cordonale a quell'epoca gestazionale.

Il clonaggio dei geni che codificano per le varie subunità della NADPH ossidasi permette oggi l'identificazione della mutazione e quindi anche la diagnosi prenatale mediante analisi del DNA dei villi coriali, ottenibile fin dalla 10° settimana di gestazione, o amniocentesi eseguibile alla 15°-16° settimana di gestazione. La diagnosi prenatale è possibile solo in quei casi in cui sia già stata identificata la mutazione in un altro membro affetto della famiglia. E' questo uno dei motivi per cui è opportuno effettuare la caratterizzazione genetica di tutti i casi identificati. Nei casi in cui non è nota la mutazione è possibile eseguire l'indagine mediante analisi dei polimorfismi del DNA.

BIBLIOGRAFIA ESSENZIALE

Aspetti biochimici e genetici

1. Landing B.H. et al. A syndrome of recurrent infection and infiltration of viscera by pigmented lipid histiocytes. *Pediatrics* 20:431-438, 1957
2. Roos D, Curnutte J.T. Chronic Granulomatous Disease in: Hans D Hochs ed. *Primary Immunodeficiency Diseases*, 353-374, 1999
3. Leusen J.H.W. et al. A point mutation in gp91-phox of cytochrome b558 of the human NADPH oxidase leading to defective translocation of the cytosolic proteins p47-phox and p67-phox. *J Clin Invest* 93: 2120-2126, 1994
4. Leusen J.H.W. et al. Disturbed interaction of p21-rac with mutated p67-phox causes Chronic Granulomatous Disease. *J Exp Med* 184: 1243-1249, 1996
5. Leusen J.H.W. et al. Four novel mutations in the gene encoding gp91-phox of human NADPH oxidase: consequences for oxidase assembly. *Blood* 95: 666-673, 2000
6. Roos D et al. Mutations in the X-linked and autosomal recessive forms of CGD. *Blood* 87:1663-1681, 1996
7. Patino P.J. et al. Molecular characterization of autosomal recessive Chronic Granulomatous Disease caused by a defect nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (reduced form) oxidase component p67-phox. *Blood* 94: 2505-2514, 1999
8. Gorlach A. et al. A p47 phox pseudogene carries the most common mutation causing p47-phox Chronic Granulomatous Disease. *J Clin Invest* 100: 1907, 1997

Aspetti clinici

1. Liese J.G. et al.: Chronic Granulomatous Disease in adults. *Lancet* 347 : 220-223, 1996.
2. Mouy R. et al. Incidence, severity and prevention of infections in Chronic Granulomatous Disease. *J Pediatr* 114: 555-560, 1989
3. Goldblatt D et al. Chorioretinal lesions in patients and carriers of Chronic Granulomatous Disease. *J Pediatr* 134: 780-783, 1999
4. Sponseller P. et al. Skeletal involvement in children with Chronic Granulomatous Disease. *J Bone Joint Surg* 73: 37-51, 1991
5. Barton L. et al. Gastrointestinal complications of Chronic Granulomatous Disease. *Clin Pediatr* 37: 231-36, 1998
6. Mc Clellan W et al. The urological manifestations of Chronic Granulomatous Disease. *J Urology* 147: 1314-1318, 1992

7. Payne N. et al. Growth in patients with Chronic Granulomatous Disease. *J Pediatr* 102: 397-399, 1983
8. Brzica S. et al. Chronic Granulomatous Disease and the McLeod phenotype. *Mayo Clin Proc* 52: 153, 1977
9. Yeaman G. et al. Discoid lupus erythematosus in an X-linked cytochrome-positive carrier of Chronic Granulomatous Disease. *Br J Dermatol* 126: 60, 1992
10. Liese J et al. Long term follow-up and outcome of 39 patients with Chronic Granulomatous Disease. *J Pediatr* 137: 687-693, 2000

Aspetti diagnostici

1. Ochs H.D. et al. The NBT slide test : a simple screening method for detecting Chronic Granulomatous Disease and female carriers. *J Pediatr* 83: 77, 1973
2. Porter C.D. et al. Superoxide production by normal and Chronic Granulomatous Disease patient-derived EBV-transformed B cell lines measured by chemiluminescence-based assays. *J Immunol Methods* 155: 151, 1992
3. Mayo L. et al Kinetic microplate assay for superoxide production by neutrophils and other phagocytic cells. *Methods Enzymol* 186: 567, 1990
4. Lutter R. et al. Purification and partial characterization of the b-type cytochrome from human polymorphonuclear leukocytes. *J Biol Chem* 260: 2237, 1985
5. Emmendorfer A et al. A fast and easy method to determine the production of reactive oxygen intermediates by human and murine phagocytes using dihydrorhodamine 123. *J Immunol Methods* 131: 269, 1990
6. Nakamura M. et al. Monoclonal antibody 7D5 raised to cytochrome b558 of human neutrophils: immunocytochemical detection of the antigen in peripheral phagocytes of normal subjects, patients with Chronic Granulomatous Disease, and their carrier mothers. *Blood* 69: 1404, 1987
7. Verhoeven A.J. et al. Characterization of two monoclonal antibodies against cytochrome b558 of human neutrophils. *Blood* 73: 1686, 1989

Aspetti terapeutici

1. Fischer A. et al. The management of Chronic Granulomatous Disease. *Eur J Pediatr* 152: 896-899, 1993
2. Seger R. et al. Treatment of Chronic Granulomatous Disease. *Immunodef* 5: 113-130, 1994
3. Margolis D. et al. Trimethoprim-sulfamethoxazole prophylaxis in the management of CGD. *J Infect Dis* 162: 723-726, 1990

4. Mouy R. et al. Long-term itraconazole prophylaxis against *Aspergillus* infection in 32 patients with CGD. *J Pediatr* 125: 998-1003, 1994
5. Int. Chronic Granulomatous Disease cooperative study group. A controlled trial of interferon gamma to prevent infection in Chronic Granulomatous Disease. *New Engl J Med* 325: 509-516, 1991
6. Weening R.S. et al. Recombinant human interferon-gamma in patients with Chronic Granulomatous Disease- European follow up study. *Eur J Pediatr* 154: 295-298, 1995
7. Condino-Neto A. et al. Interferon-gamma improves splicing efficiency of CYBB gene transcripts in an interferon-responsive variant of Chronic Granulomatous Disease due to a splice site consensus region mutation. *Blood* 95: 35-54, 2000
8. Caspar C et al. Effective stimulation of donors for granulocyte transfusions with recombinant methionyl granulocytes colony-stimulating factor (G-CSF). *Blood* 81: 2866-2871, 1993
9. Eckert J et al. The surgical implications of Chronic Granulomatous Disease. *Amer J Surg* 169: 320-323, 1995
10. Danzinger R. et al. Outpatient management with oral corticosteroid therapy for obstructive conditions in CGD. *J Pediatr* 122: 303-305, 1993
11. Schwartz S. et al. Successful treatment of cerebral aspergillosis with a novel triazole (voriconazole) in a patient with acute leukemia. *Br J Haematol* 97: 663-665, 1997
12. Van't Hek L.G. et al. Successful treatment with voriconazole of invasive aspergillosis in Chronic Granulomatous Disease. *Am J Respir Crit Care Med* 157: 1694-1696, 1998
13. Fukuda T. et al. Treatment with granulocyte colony-stimulating factor for pneumonia in a patient with a variant form of X-linked Chronic Granulomatous Disease. *Eur J Haematol* 55: 63-34, 1995
14. Kamani N. et al. Marrow transplantation in Chronic Granulomatous Disease: an update with six years follow up. *J Pediatr* 113: 696-700, 1988
15. Di Bartolomeo P et al. : Reconstitution of normal neutrophil function in Chronic Granulomatous Disease by bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 4: 695-700, 1989
16. Di Bartolomeo P et al. X-linked cytochrome B positive Chronic Granulomatous Disease treated by bone marrow transplantation. *Hematology* 4: 313-318, 1999
17. Nagler A. et al. Donor lymphocyte infusion post-non-myeoablative allogeneic peripheral blood stem cell transplantation for Chronic Granulomatous Disease. *Bone Marrow Transplant* 24: 339-342, 1999
18. Malech H. L. et al. Progress in gene therapy for Chronic Granulomatous Disease. *J. Infect Dis.* 179 suppl. 2 : 318-325, 1999

Modulo A

data _____

Paziente Cognome _____ Nome _____

Data di nascita
giorno mese anno

Medico di riferimento:
Istituto di Appartenenza.....
Via.....
CAP..... Città.....
Tel..... Fax.....
e- mail.....

Si richiede test quantitativo con citofluorimetria a flusso con diidrorodamina 123 per:

il paziente

la madre: cognome _____ nome _____

Spedire a:

