



UNIVERSITÀ DI PISA

DIPARTIMENTO DI FARMACIA

Corso di Laurea Magistrale in Farmacia

TESI DI LAUREA

**CARATTERISTICHE FARMACOLOGICHE E USO CLINICO
DEL PALIVIZUMAB NEL TRATTAMENTO DELL'INFEZIONE
DA VIRUS RESPIRATORIO SINCIZIALE**

Relatore:

Dott. Calderone Vincenzo

Correlatore:

Dott.ssa Martelli Alma

Candidato:

Sassetti Filippo

ANNO 2015

Indice

1. Introduzione
2. RSV
 - 2.1 RSV e la risposta immunitaria
 - 2.2 RSV ed i bambini
 - 2.3 Sintomi e Prevenzione
 - 2.3.1 Sintomi
 - 2.3.2 Prevenzione
 - 2.4 Studi effettuati nei vari paesi
3. Trattamenti
 - 3.1 Broncodilatatori
 - 3.2 Antinfiammatori
 - 3.3 Antivirali permessi
 - 3.4 Nuovi agenti anti-RSV
 - 3.5 Prevenzione di tosse a lungo termine
4. Palivizumab
 - 4.1 Profilo farmacodinamico
 - 4.1.1 Studi in Vitro
 - 4.1.2 Studi sugli Animali
 - 4.1.3 Studi sugli umani
 - 4.2 Profilo farmacodinamico
 - 4.2.1 Neonati ad alto rischio
 - 4.2.2 Pazienti immunocompromessi
 - 4.3 Prove terapeutiche
 - 4.4 Tollerabilità
5. EFFICACIA DEL PALIVIZUMAB
 - 5.1 La somministrazione del Palivizumab nei vari Paesi
6. Discussione
7. Riflessioni

Bibliografia

1. Introduzione

Uno dei principali patogeni del tratto inferiore respiratorio nei bambini sotto i 2 anni è il virus respiratorio sinciziale (RSV); nel 2015 furono stimate dall'OMS circa 64 milioni di infezioni per RSV e 160 mila morti in tutto il mondo. Questo fa sì che l'RSV, nei paesi industrializzati, sia la principale causa di epidemie precoci invernali.

Il rischio di infezione da RSV è molto alto nei bambini che nascono prematuri o quelli che presentano determinate patologie, quali:

- displasia broncopolmonare (BPD)
- malattie polmonari croniche (CLD)
- malattie congenite cardiache (CHD)
- fibrosi cistica (CF),
- immunodeficienza (*Madhi et al.* , 2001).

Tra il 5,2% e il 16,8% di bambini prematuri che riscontrano RSV deve ricorrere all'ospedalizzazione, di questi una gran parte deve poi essere portata in terapia intensiva (*Stevens et al.* ,2000) o comunque vigilata il più possibile per tutta la stagione invernale e quella successiva, poichè il rischio di ammalarsi una seconda volta l'anno seguente o quello seguente ancora è rispettivamente del 74-83% e 46-65% (*Hall et al.* ,1991).

Tutto questo fa sì che i costi per le cure di questa infezione si aggirino intorno ai 3-4 milioni di dollari (*Committee on Infectious Diseases and Bronchiolitis Guidelines Committee*, 2014).

2. RSV

Il virus respiratorio sinciziale (RSV) fu isolato per la prima volta nel 1955 in una scimmia (Rizzetto,1990) , mentre quello umano fu descritto due anni dopo nel 1957 in due neonati che presentavano un'infezione delle vie respiratorie. Appartiene all'ordine *Monegavirales*, famiglia *Paramyxoviridae*, sottofamiglia *Pneumovirinae*, genere *Pneumovirus* (Groothuis ,1994).

2.1 RSV e la risposta immunitaria

Il virione dell'RSV è costituito da un nucleocapside a simmetria elicoidale, circondato da un involucro lipidico, che normalmente deriva dalla cellula ospite, e contiene tre glicoproteine trans-membrana. All'interno il virus della famiglia delle *Paramyxoviridae* presenta un singolo filamento negativo di RNA con 15222 nucleotidi che codificano per 11 proteine.

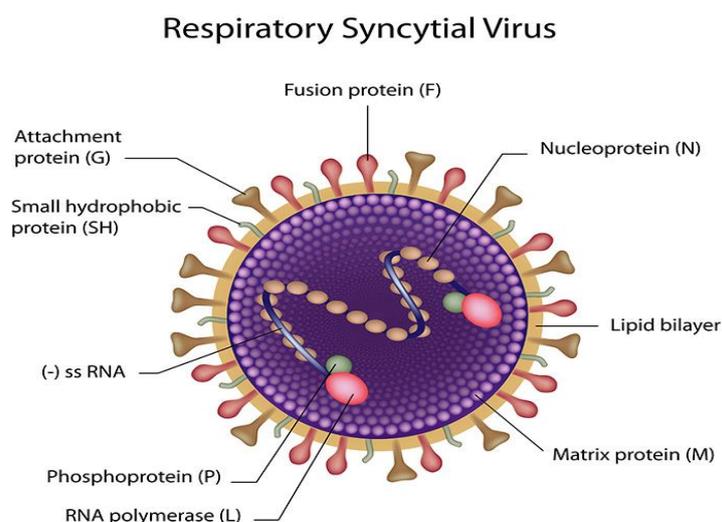


Fig. 1. Virus respiratorio sinciziale

L'RSV presenta due gruppi antigenici: il gruppo A e il gruppo B, entrambi possono essere presenti anche nella stessa stagione.

Sono fondamentali per l'infettività e la patogenesi del virus due glicoproteine, la proteina G ed F; il target delle proteine G sono le cellule ciliate

del tratto respiratorio, su cui mediano l'aderenza, ma da sole non sono sufficienti per determinare la patologia. Per far questo c'è bisogno della proteina F che promuove l'ingresso del virus attraverso la fusione della membrana cellulare e del virus (*Rutigliano et al., 2005*), questo fa sì che la proteina F rappresenti il target su cui si basano gli studi dei farmaci, soprattutto nella sua forma di prefusione (PreF) (*Magro et al., 2012*).

Una volta avvenuto l'ingresso del RSV nella cellula ospite, avviene la trascrizione del genoma virale e di conseguenza la sua replicazione nel citoplasma, dove le proteine e l'RNA virale si accumulano raggiungendo un picco di produzione a 15-20 ore dall'infezione.

A questo punto può iniziare il rilascio della progenie virale della cellula, questa fase può essere preceduta dalla promozione della diffusione cellula-cellula dell'RSV, da cui si vengono a produrre caratteristici sincizi: cellula multinucleata formatasi dalla fusione di più cellule (fig.2) (*Heidema et al., 2004*).

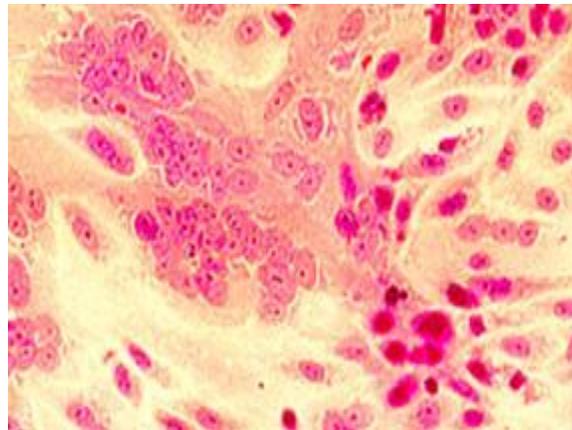


Fig.2 Formazione di vari sincizi a causa dell'RSV

Recentemente alcuni ricercatori hanno notato una grave infezione per RSV associata ad un'esagerata risposta infiammatoria (*Larranga et al., 2009*). La non stimolazione di citochine (IL-6, IL-8, IL-10) è indipendente dalla gravità della malattia, mentre è significativa la bassa produzione di TNF-alfa nei bambini con RSV in terapia intensiva (*Mella et al., 2013*). Questo risultato suggerisce che una grave infezione da RSV nei bambini è causata da una difettosa risposta immunitaria.

2.2L'RSV ed i bambini

L'RSV come detto nell'introduzione è una delle maggiori minacce associate alle malattie acute e a lungo termine per i bambini.

Le infezioni per RSV occorrono stagionalmente e sono prevalentemente presenti durante l'inverno e l'inizio della primavera (fig.3).



Previsione dell'andamento mensile dell'infezione da RSV in Italia sulla base della valutazione dei risultati dello Studio Osservatorio VRS.

Conoscere l'andamento stagionale delle infezioni da RSV è importante per poter mettere in atto una prevenzione efficace

Fig. 3 Andamento dell'infezione da RSV in Italia

Nel 2005 3,4 milioni di bambini, nei paesi industrializzati, sono stati ospedalizzati per infezioni del tratto respiratorio inferiore causati dall'RSV (bronchioliti e pneumonia) (Nair et al., 2010). Questo porta il virus ad essere la seconda causa di morte dopo la malaria nei primi due anni di vita ed inoltre i bambini infettati dal virus presentano una possibilità di re-infezione con percentuali molto alte:

74-83% nel secondo anno

46-65% nel terzo anno (Hall et al., 1991)

Molti studi hanno rivelato che il rischio di infezione per RSV è associato soprattutto a bambini che nascono prematuri o con malattie croniche ai polmoni (CLD), malattie congenite al cuore (CHD), fibrosi cistica (CF), anomalie congenite multiple ed immunodeficienza (Madhi et al., 2001). Il tasso di ospedalizzazione nei bambini prematuri è tra il 5,2 % ed il 16,8 % ed a questo ci si aggiunge molto spesso la necessità di portare i bambini anche in terapia intensiva e di ventilazione meccanica (Carbonell-Estrany e Quero, 2001). Tutto questo comporta un grande dispendio economico; negli Stati Uniti il

costo annuale per l'ospedalizzazione pre-pneumonia causata da RSV di bambini sotto i 4 anni è di 3-4 milioni \$ più le spese per le visite a casa, nonché l'assenza sul posto di lavoro dei genitori per seguire i figli (Kamal-Bahl et al. , 2002).

2.3 Sintomi RSV e prevenzione

2.3.1 Sintomi

La diagnosi di bronchiolite si basa su criteri clinici: rinorrea e/o infezione delle alte vie respiratore, distress respiratorio con crepitii e/o respiro sibilante, polipnea, uso dei muscoli accessori e retrazioni del torace, difficoltà ad assumere liquidi e cibo, ipossia. I bambini con bronchiolite acuta possono presentarsi con un'ampia gamma di quadri clinici che vanno da una forma con lieve distress respiratorio fino ad una imminente insufficienza respiratoria. La risposta immunitaria all'infezione da RSV nei bambini che sviluppano bronchiolite si caratterizza per una importante infiammazione neutrofila delle vie aeree (Fig. 4).

L'indicazione al ricovero in caso di bronchiolite si pone in presenza di ipossia (saturazione di O₂ < 90-92% in aria ambiente), distress respiratorio moderato-

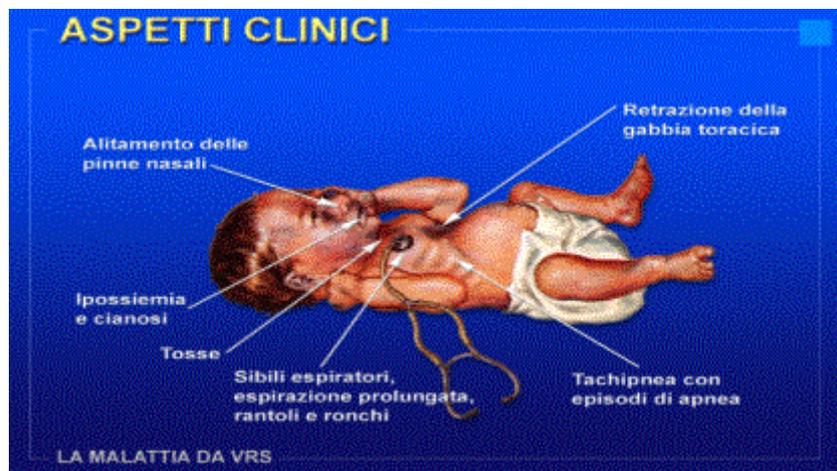


Fig. 4 Sintomi dell'RSV

severo, disidratazione,

apnee. Altri criteri da considerare sono: età anagrafica, appartenenza a categorie a rischio, alterazione dello stato di coscienza e della reattività, riduzione dell'assunzione di liquidi (<50% dell'apporto abituale), fattori sociali ed ambientali sfavorevoli. Il neonato o lattante con bronchiolite grave deve essere trasferito in Terapia Intensiva Pediatrica se

presenta insufficienza respiratoria con necessità di supporto ventilatorio, apnee con desaturazione e grave compromissione dello stato generale.

2.3.2 Prevenzione

La prevenzione si basa sulla profilassi ambientale rivolta a minimizzare la diffusione del virus e sulla profilassi farmacologica che prevede la somministrazione ai bambini ad alto rischio di Palivizumab durante il periodo epidemico. La profilassi ambientale, specie in periodo epidemico, è indispensabile per ridurre la trasmissione del RSV in ambito ospedaliero e ambulatoriale, in quanto esso si propaga facilmente per via aerea attraverso le goccioline di saliva e attraverso il contatto con oggetti e superfici contaminate (mani, indumenti, giocattoli, strumenti medici, stoviglie, ecc.) su cui può depositarsi e rimanere attivo per diverse ore. La profilassi ambientale si effettua mediante il lavaggio frequente delle mani e la loro decontaminazione con soluzioni alcoliche, e la pulizia delle superfici solide con acqua e disinfettante (da preferirsi disinfettanti alcolici) (Fig.5).

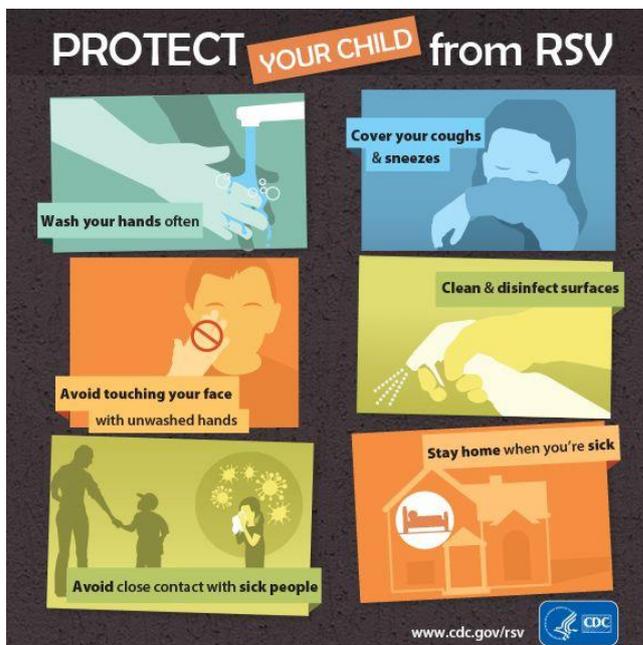


Fig. 5 Indicazioni per la prevenzione da RSV

In ambiente ospedaliero o ambulatoriale devono essere decontaminate anche le attrezzature mediche che sono utilizzate per più pazienti ed è inoltre raccomandato l'utilizzo di guanti e camici monouso per gli operatori sanitari che vengono a contatto con il paziente. L'adesione a queste raccomandazioni ha condotto ad un decremento del 39-50% delle infezioni nosocomiali da RSV.

E' molto importante che venga incoraggiato l'allattamento al seno per ridurre la morbilità delle infezioni respiratorie. E'

inoltre essenziale l'educazione dei genitori per evitare ai bambini l'esposizione al fumo passivo di sigaretta, che aumenta il rischio di sviluppare bronchiolite e infezioni respiratorie. Di particolare importanza è anche la prevenzione dell'esposizione del feto al fumo passivo delle madri durante la gravidanza.

2.4 Studi effettuati nei vari paesi

Uno studio di coorte retrospettivo sviluppato in un programma medico del Tennessee dal 1989 al 1993 aveva seguito 248 552 bambini sotto i tre anni. Di questi bambini il 4,4 % era stato ospedalizzato a causa del virus; il 79 % di questa percentuale aveva un'età inferiore all'anno (34 % meno di 3 mesi e un 30 % tra i 3-6 mesi).

Il tasso di ospedalizzazione nei bambini con cardiopatia congenita (CHD) o prematuri era 2-3 volte maggiore che nei bambini a basso rischio (*Boyce et al., 2000*).

D'altra parte, in Europa, secondo uno studio retrospettivo fatto in Olanda tra il 1996 ed il 1999, il tasso di ospedalizzazione nei bambini nati prima delle 32 settimane e tra la 32esima settimana e la 36esima è rispettivamente del 7,2% e del 3,6%. Il "*Sentinel System of the Dutch Working Groups for Clinical Virology*" riporta che il 96% delle diagnosi di RSV riguardano bambini di età inferiore ai 5 anni (*Law et al. 2002*).

In Spagna l'*IRIS Study Group* ha monitorato il tasso di ospedalizzazione di neonati prematuri con l'aiuto di 26 centri; i dati collezionati sono che il 25% di tutti i bambini nati prematuri è ospedalizzato ed il 13,4% è a causa dell'RSV (*Law et al. 2002*). Infine in Italia, il *RADAR Study Group* tra il novembre 1999 e l'aprile del 2000 ha registrato 1232 bambini ricoverati, di cui il 42% era affetto da malattie del tratto inferiore respiratorio positive all'RSV; il 14% pesava meno di 2500 grammi (un 6% in meno del peso medio dei neonati), l'8,5% era nato prima della 36esima settimana (contro il 4% dei neonati nati al nono mese) (*Lanari et al., 2002*).

3. Trattamenti

Attualmente alla base del trattamento contro l'RSV c'è un attento monitoraggio dell'evoluzione clinica e una terapia di supporto dei pazienti con liquidi per via endovenosa e ossigeno (*Ralston et al. 2014*).

Molti pazienti, a causa della necessità dei medici di voler ottenere una rapida risoluzione dei sintomi molto rapidamente, sono sottoposti a trattamenti non necessari con antibiotici, steroidi o broncodilatatori per via inalatoria, nonostante i trial clinici e alcune meta-analisi controllate dimostrino che queste terapie non siano molto efficaci.

3.1 Broncodilatatori

Broncodilatatori come salbutamolo nebulizzato, epinefrina o heliox hanno dimostrato, secondo alcuni studi, di produrre un modesto e breve miglioramento; tuttavia non producono un vantaggio definitivo nei neonati e nei bambini piccoli con bronchiolite acuta causata da RSV (*Ralston et al., 2014*).

E' stata utilizzata anche una soluzione salina ipertonica, con buoni risultati, per diminuire l'edema delle vie aeree nei bambini con bronchiolite (*Zhang et al., 2008*). L'effetto benefico appare maggiore nei pazienti che necessitano di ospedalizzazione rispetto a quelli valutati nel Dipartimento di Emergenza (ED).

3.2 Antinfiammatori

Diversi studi hanno dimostrato l'assenza di benefici di corticosteroidi nebulizzati o sistemici per il trattamento di RSV acuta, da soli o in combinazione con broncodilatatori (Corneli et al., 2007). Infatti, la somministrazione per via endovenosa di desametasone a bambini con grave RSV non produce nessun effetto nel corso della malattia sui marker infiammatori o su risultati clinici, così come sul numero di giorni di ventilazione meccanica, di terapia intensiva o degenza ospedaliera (Somers et al., 2009).

Anche gli antagonisti dei leucotrieni sono stati studiati con risultati deludenti. Così, gli antinfiammatori attualmente disponibili non sono efficaci e non sono indicati per la gestione di infezione da RSV nei bambini (Bisgaard et al., 2008).

3.3 Antivirali

Attualmente solo due farmaci sono stati approvati per il trattamento di RSV.

- Ribavirina: un analogo della guanosina, è un virostatico ad ampio spettro agente antivirale attivo contro l' RSV ed altri virus a RNA.

Studi hanno dimostrato un effetto rapido e benefico sulla malattia nei neonati trattati con ribavirina con aerosol, ma l'*American Academy of Pediatrics* (AAP) non raccomanda l'utilizzo routinario del farmaco nei bambini, può essere solo preso in considerazione per in pazienti selezionati con infezione da RSV in pericolo di vita. (Ventre e Randolph, 2010)

-Anticorpi monoclonali: Il campo della terapia antivirale per RSV è radicalmente cambiato dal 1980, anno in cui per la prima volta è stato utilizzato un anticorpo monoclonale (Dillman, 2009). Negli anni successivi fu utilizzata una preparazione di immunoglobulina policlonale endovenosa con elevati anticorpi neutralizzanti contro l'RSV (RSV IVIG) che ha dimostrato di essere efficace nel ridurre l'ospedalizzazione per infezioni dal virus nei bambini ad alto rischio.

Nel 1998 la *Food and Drug Administration* (FDA) ha concesso in licenza l'uso di Palivizumab, anticorpo monoclonale umanizzato ad elevata attività neutralizzante contro la glicoproteina F (Feltes et al., 2003).

Attraverso due grandi studi random in ambito clinico , dove è stato comparato il risultato del Palivizumab con quello del placebo, si è visto come il farmaco abbia ridotto in maniera significativa i tassi di ospedalizzazione nei bambini ad alto rischio.

In un successivo studio randomizzato confrontando il Palivizumab rispetto al Motavizumab (anticorpo monoclonale di seconda generazione), si è confermato che il primo ha una miglior efficacia nella prevenzione dell'ospedalizzazione da RSV (*Carbonell-Estrany et al., 2010*)

Nonostante la sua efficacia ma principalmente a causa dei costi, l'AAP ha recentemente pubblicato una dichiarazione in cui si chiede di limitare l'uso di Palivizumab per profilassi limitandone l'uso solo nei bambini ad alto rischio.

3.4 Nuovi agenti anti-RSV

Negli ultimi anni, in aggiunta agli anticorpi anti-RSV, si stanno sviluppando strategie alternative contro RSV.

La maggior parte delle nuove terapie anti-RSV coinvolge la progettazione di piccole molecole con attività antivirale e diverso meccanismo d'azione.

Inoltre vi è un rinnovato interesse per lo sviluppo di nuovi vaccini per RSV. Negli ultimi anni, alcuni di questi composti sono stati testati prima su un modello sperimentale umano di volontari adulti (*Anderson et al., 2013*).

Questo modello ha permesso di vedere le risposte immunologiche, cliniche e virologiche in un ambiente controllato e così di poter valutare la sicurezza e l'attività antivirale di questi composti prima di sottoporli a livello pediatrico su una popolazione vulnerabile ed infetta.

Questi agenti anti-RSV più recenti hanno dimostrato una maggior potenza e sono in fase di studio attraverso percorsi alternativi. Il profilo farmacocinetico è stato migliorato, cercando inoltre di ridurre i costi di progettazione e di fabbricazione (*DeVincenzo et al., 2014*)

Le strategie di gestione sono importanti e complicate poiché il farmaco deve essere utilizzato sia per il trattamento ma anche per la profilassi; e non solo su gruppi ad alto rischio, ma anche per bambini precedentemente sani ricoverati in ospedale con gravi RSV, per pazienti con infezioni respiratorie superiori o inferiori miti, per anziani, e per quelli con malattie croniche polmonari ostruttive.

3.5 Prevenzione di tosse a lungo termine

L'attenzione si è spostata non solo sul miglioramento a breve termine nei pazienti ricoverati con infezione da RSV , ma anche sulla prevenzione e il miglioramento della morbilità a lungo termine.

Studi hanno dimostrato che i neonati infetti da RSV presentano un'alta possibilità di manifestazioni asmatiche durante la propria vita, con percentuali che sfiorano il 30% rispetto al solo 3% nei bambini che non hanno mai contratto il virus . Inoltre, l'RSV induce nei topi un' infezione cronica delle vie aeree (*Jafri et al., 2004*)

Negli studi precedenti sui topi è stato dimostrato che il trattamento con anticorpi monoclonali 24 h prima dell'inoculazione, ha significativamente ridotto gli RSV nel tratto respiratorio. Lo sviluppo nelle vie aeree dell'RSV produce iperreattività polmonare cronica, questo ci suggerisce che la prevenzione della malattia acuta è associata ad un miglioramento in morbilità a lungo termine.

Successivamente, due studi clinici su neonati prematuri, uno osservazionale e il secondo randomizzato, in doppio cieco, con placebo, ha dimostrato una riduzione significativa dello sviluppo di tosse cronica in quelli che avevano ricevuto la profilassi con Palivizumab (*Simoës et al., 2007*).

4. Palivizumab



Fig. 6 Synagis nome commerciale del Palivizumab in commercio

Agli inizi del 1960, i bambini vennero vaccinati con un vaccino di RSV inattivo, ma esso aumentava il rischio di infezione a causa del virus nelle stagioni successive. I dati hanno poi evidenziato che gli anticorpi neutralizzati potevano avere effetti benefici nella profilassi dell'infezione da RSV. Nel 1996 un'immunoglobulina umana policlonale arricchita di RSV (RSV-IGIV) fu approvata negli Stati Uniti per la profilassi dell'infezione da RSV, prodotta mediante tecnologia del DNA ricombinante, il quale lega un epitopo della glicoproteina F presente sulla superficie dell' RSV, bloccando il legame tra il virus e la cellula bersaglio (*Meissner et al.*, 1999).

È importante sottolineare che, con questa immunoprofilassi, non vi è nessun sviluppo di replicazione virale o polmonare associata alla patologia.

Di recente sono stati sviluppati anticorpi monoclonali significativamente più potenti (RSV - IGIV), che presentano un volume più piccolo e quindi possono essere somministrati o per via intramuscolare o endovenosa. Da questi studi è nato il Palivizumab, un anticorpo monoclonale umanizzato IgG che inibisce specificamente un epitopo al sito antigenico della proteina F (una proteina con 92 % di omologia tra i sottotipi RSV A e B). È stato dimostrato che questo trattamento diminuisce l'ospedalizzazione e la criticità clinica dell'infezione del 55% nei neonati ad alto rischio (*IMPact-RSV Study Group*. 1998).

4.1 Profilo farmacodinamico

4.1.1 Studi in Vitro

Il Palivizumab lega la proteina F dell'RSV con una costante di dissociazione (Kd) di 1,4 nmol/L in vitro e neutralizza efficacemente una vasta gamma di RSV isolati clinicamente. Questa neutralizzazione supera i 500 isolati clinici (sottotipi A e B) raccolti attraverso neonati infetti in uno studio multinazionale e 57 isolati clinici (34 sottotipi A e 23 sottotipi B) in un altro studio (*Malley et al., 1998*)

Uno studio in vitro ha dimostrato che la concentrazione di Palivizumab necessaria a ridurre il 50% della replicazione virale (EC50), è pari a 0,1 mg/L in relazione alla microneutralizzazione e 0,17 mg/L in relazione alla inibizione della fusione; le concentrazioni dell'RSV-IGIV necessarie sono invece rispettivamente di 2,58 mg/L e 5,25 mg/L . Questo a conferma che la sostanza studiata è 20-30 volte più potente di RSV-IGIV nel neutralizzare entrambi i sottotipi di RSV in vitro.

In un altro studio in vitro, i ricercatori hanno visto che il farmaco è 4-5 volte più efficace del Felivizumab (RSHZ19), un altro anticorpo monoclonale diretto contro la proteina F dell'RSV, nel neutralizzare il virus (*Johnson et al., 1999*) .

4.1.2 Studi sugli Animali

In uno studio di ricerca della dose efficace (EC 50) nei topi, il Palivizumab 5 mg/kg e 2,5 mg/kg, somministrato per via intravenosa ed intramuscolare, riduceva la replicazione dell'RSV A e B del 99,9% nei polmoni al quarto giorno dopo la somministrazione; una minor dose di palivizumab era meno efficace (*Jhonson et al., 1997*) .

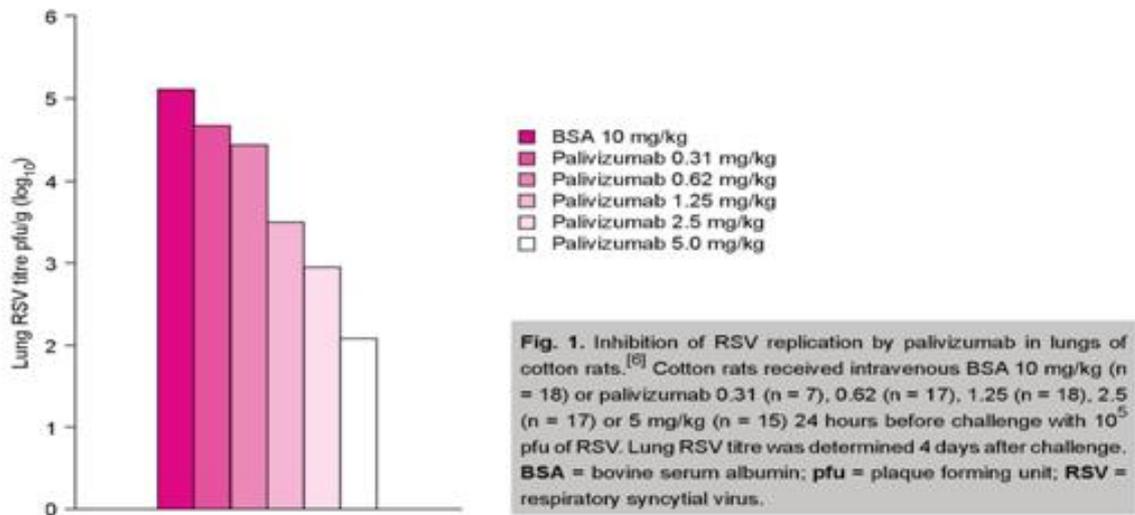


Fig. 7 Rapporto tra dosi di palivizumab e infezioni per RSV

La concentrazione nel plasma di Palivizumab per poter ridurre del 99,9% la replicazione dell'RSV polmonare dovrebbe essere maggiore di 40 mg/L. In studi comparativi, utilizzando i topi come modello, il felvizumab per avere lo stesso effetto di protezione contro i sottotipi A e B dell'RSV dovrebbe presentare dosi dalle 2 alle 4 volte maggiori rispetto al Palivizumab (*Johnson et al., 1999*).

Non c'è nessun aumento nella replicazione dell'RSV o peggioramento della patologia a livello polmonare dopo il primo o anche il secondo contatto con il virus respiratorio sinciziale nei topi trattati con dosi subinibitorie di Palivizumab. (*Jhonson et al., 1997*)

Nei topi il pretrattamento con Palivizumap intraperitoneale a dosi di 15 mg/kg, somministrato 5 giorni prima che la capsicina stimoli i nervi delle mucose della via aerea a causa delle infezioni da RSV, riduce lo stravasamento del colorante Evans blue in risposta all'infezione del 61% comparato con il placebo (118,3 vs 45,6 ng/ml; p = 0,0005). A differenza del Palivizumab, RSV-IGIV riduce l'infiammazione neurogena mediata del 36% comparato con il placebo (93,2 vs 59,6 ng / ml; p = 0,0006).

4.1.3 Studi umani

Il palivizumab decrementa significativamente la replicazione dell'RSV, nella trachea dei bambini infetti, inizialmente ventilati meccanicamente. Durante le prime 24 ore, il livello di RSV nelle secrezioni profonde della trachea cala dell'1,7 log 10 pfu/mL nei bambini che hanno ricevuto palivizumab intravenoso da 15 mg / kg comparato con lo 0,6 log 10 pfu / mL in quelli che hanno ricevuto il placebo. Dopo 48 ore, il livello cala del 2,5 log10 rispetto all' 1 log10 pfu/mL ($p=0,012$).

Queste differenze che incontriamo a 24 e a 48 ore nei gruppi di trattamento si sono dimostrate significative in tutti i parametri testati (numero di globuli bianchi, neutrofili e percentuali mieloperossidasi o eosinofila proteina cationica concentrazione) a livello delle secrezioni nasali e tracheali. QUAL'E' IL RIFERIMENTO BIBLIO DI QUESTO STUDIO?

4.2 Profilo farmacocinetico

Le proprietà farmacocinetiche del Palivizumab sono state investigate nei neonati prematuri con meno di 6 mesi di età (< 35 settimane di gestazione), neonati con BPD con meno di 24 mesi di età e in pazienti (età non specificata) che hanno subito un trapianto di cellule staminali ematopoietiche.

4.2.1 Neonati ad alto rischio

Già a partire dalla seconda iniezione mensile intravenosa o intramuscolare di 15 mg/Kg di Palivizumab , la concentrazione plasmatica minima (Cmin) nell'86% dei neonati, risultava essere intorno ai 70 mg/L; superando così la concentrazione minima necessaria a ridurre la replicazione dell'RSV polmonare del 99% negli animali pari a 40 mg/L.

Nei neonati trattati con Palivizumab a 10 mg/Kg e dai 3-5 mg/kg la percentuale di quelli con concentrazioni plasmatiche superiori alla soglia di 40 mg/L era rispettivamente del 38% e dell'0 % (*Sáez-Llorens et al., 1998*) (Fig. 8)

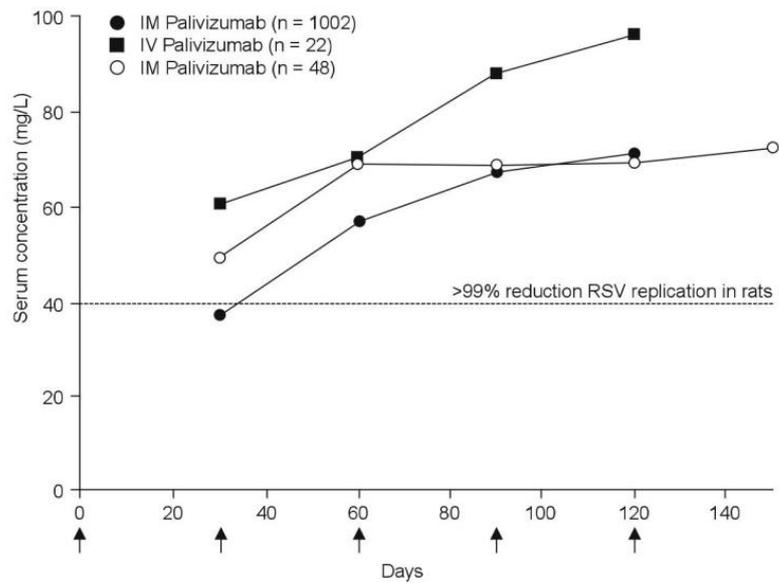


Fig. 2. Mean trough serum concentrations of palivizumab in infants at high risk of RSV infection. Infants received palivizumab 15 mg/kg intramuscularly (n = 1002^[12] and n = 48)^[11] or intravenously (n = 22)^[13] every 30 days for up to 5 months. Arrows indicate the timing of each dose. Infants recruited were those born prematurely (≤ 35 weeks of gestation) who were ≤ 6 months of age or those with bronchopulmonary dysplasia who required recent or ongoing treatment and were ≤ 2 years of age. The concentration of palivizumab required to reduce RSV replication by $>99\%$ in cotton rats is indicated on the graph. **RSV** = respiratory syncytial virus.

Fig. 8 Grafico delle varie concentrazioni di Palivizumab ogni 30 giorni

Il tempo medio di eliminazione dal sangue di Palivizumab ($t_{1/2}$) è di 20 giorni (19,3 – 26,8) dopo iniezione intravenosa e approssimativamente di 24 giorni dopo iniezione intramuscolare, in analogia con le IgG umane. (Subramanian KN et al., 1998)

4.2.2 Pazienti immunocompromessi

Nel 77% dei 17 pazienti che hanno avuto un trapianto di cellule staminali ematopoietiche la concentrazione di Palivizumab nel sangue al 21esimo giorno, dopo la somministrazione intravenosa di 15 mg/Kg del farmaco, supera i 40 mg/L.

I pazienti del gruppo che non hanno avuto un'infezione da RSV presentano un $t_{1/2}$ di 22,4 giorni (tra 9,9 – 56,7). Mentre nei pazienti infetti, e a cui è stata somministrata in concomitanza Ribivarina, l'emivita è più breve: 10,7 giorni (range tra 4,5 e 22,2). (Boeckh et al., 1998)

4.3 Prove terapeutiche

L'efficacia del Palivizumab nella profilassi è stata investigata in un unico studio in doppio-cieco ad ampio raggio e attraverso prove random nelle quali i neonati ad alto rischio hanno ricevuto iniezioni intramuscolari di 15 mg/kg (n = 1002) o placebo (n = 500) ogni 30 giorni per 5 mesi durante le stagioni ad alto rischio (inverno ed inizio primavera). I neonati arruolati erano: prematuri (< 35 settimane di gestazione) con età inferiore ai 6 mesi o bambini con BPD (riscontrata entro i 6 mesi) e che richiedevano trattamento con età inferiore ai 2 anni (*IMPact-RSV Study Group. 1998*).

I punti d'interesse erano:

- incidenza di ospedalizzazione attribuibile alla conferma d'infezione da RSV
- durata del ricovero
- giorni con supplemento di ossigeno
- giorni con una moderata infezione del tratto inferiore respiratorio
- ammissione e durata in terapia intensiva
- incidenza e durata di ventilazione

Il palivizumab riduce l'incidenza d'ospedalizzazione attribuibile all'RSV nei bambini ad alto rischio del 55% comparato con il placebo. Il tasso di ospedalizzazione attribuibile all'RSV è del 4,8% dei neonati a cui è stato somministrato il Palivizumab 15 mg/Kg contro il 10,6% dei neonati del gruppo placebo (p = 0.00004). L'incidenza dell'ospedalizzazione attribuibile all'RSV risulta quindi effettivamente ridotta nei neonati trattati con Palivizumab, questo indipendentemente dalla presenza di fattori di rischio individuali come BPD, bassa età gestazionale e peso alla nascita (*IMPact-RSV Study Group. 1998*).

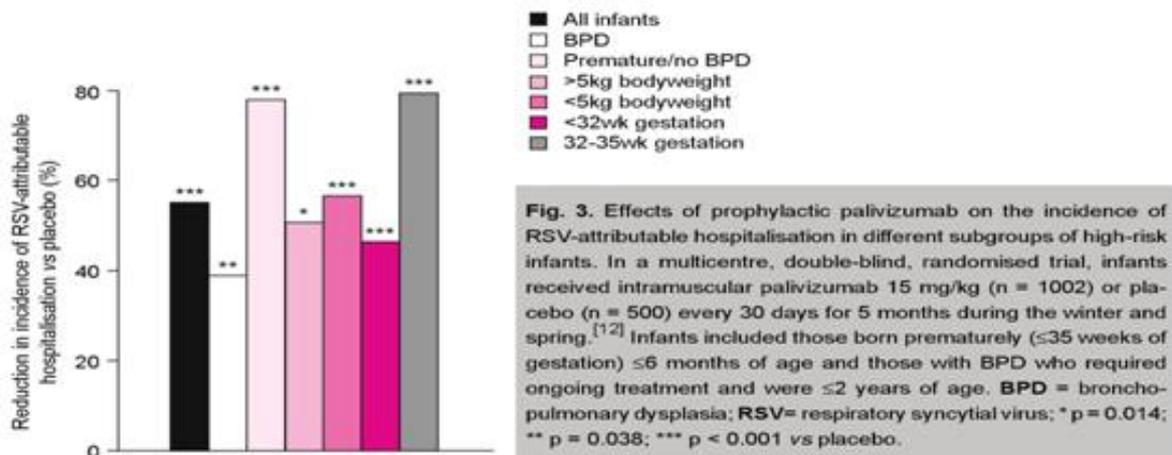


Fig. 9

Il ricovero dei neonati che hanno ricevuto il Palivizumab con infezione di RSV confermata ha avuto una minor durata rispetto a quelli non trattati (36.4 vs 62,6 giorni per 100 bambini con placebo; $p < 0.001$), ma anche un minor numero di giorni con ossigeno supplementare (30,3 vs 50,6 giorni per 100 lattanti con il placebo; $p < 0.001$) e un minor numero di giorni con infezione dell'apparato respiratorio inferiore (29.6 vs 47.4 giorni per 100 bambini con placebo; $p < 0.001$).

I destinatari del Palivizumab erano anche ammessi meno frequentemente in terapia intensiva (1.3 vs 3 % per 100 bambini con placebo; $p = 0,026$), ma il periodo di quelli ammessi è stato leggermente più lungo (13.3 vs 12.7 giorni per 100 bambini con il placebo; $p = 0,023$). Per quanto riguarda l'incidenza o i giorni totali di ventilazione non ci sono state significative differenze tra i gruppi trattati. (*IMPact-RSV Study Group. 1998*)

4.4 Tollerabilità

4.4.1 Neonati ad alto rischio

Il Palivizumab intramuscolare è stato ben tollerato dai 1002 neonati ad alto rischio di infezione di RSV. L'incidenza di eventi avversi è simile tra il trattamento con placebo (10%) e con palivizumab (11%). L'evento avverso più comune è la febbre, l'irritabilità nel

punto d'iniezione, infatti l'interruzione del trattamento a causa di effetti avversi è molto raro (0,3 %). (*Impact-RSV Study Group. 1998*)

Anche il Palivizumab intravenoso è stato ben tollerato dai bambini (n = 62) ad alto rischio d'infezione nello studio sulla dose. Eventi avversi si sono verificati nel 15% dei neonati trattati con il placebo mentre quelli in cura con l'anticorpo monoclonale (3 mg/kg 10 mg/kg e 15 mg/Kg) hanno presentato rispettivamente una percentuale di eventi avversi del 3% 10% e 23%. I più frequenti sono stati febbre (3 casi) pneumonia lobo destro superiore (2 casi) ed infiltrazione nel sito d'infusione (2 casi).

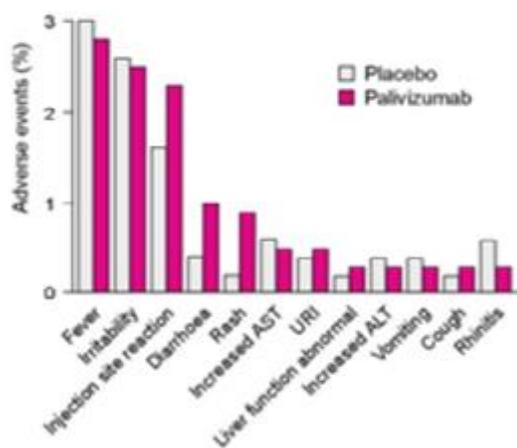


Fig. 4. Most frequently reported adverse events judged to be potentially related to palivizumab in infants at high risk of RSV infection. In a multicentre, double-blind, randomised trial, infants received an intramuscular injection of palivizumab 15 mg/kg (n = 1002) or placebo (n = 500) every 30 days for 5 months during the high-risk season.^[12] ALT = alanine aminotransferase; AST = aspartate aminotransferase; RSV = respiratory syncytial virus; URI = upper respiratory tract infection.

Le reazioni nei siti dove è stata fatta l'iniezione intramuscolare sono infrequenti (2,7 % contro l'1,8 % del gruppo placebo) e sono di breve durata. Queste reazioni sono eritema, dolore, indurimento, gonfiore e lividi. La seconda delle 5 dosi di Palivizumab 15 mg/Kg è ben tollerata dai 56 neonati ad alto rischio che hanno ricevuto il farmaco in previsione della stagione di RSV. Il palivizumab non è reattivo contro il vaccino per morbillo parotite rosolia e varicella e può essere somministrato con questi vaccini (*Null e Connor, 1999*)

5. Efficacia del Palivizumab

Nonostante vi siano stati studi che dimostrano l'efficacia del Palivizumab nel ridurre del 40% l'ospedalizzazione e quindi i costi relativi nei bambini ad alto rischio (*IMPact-RSV Study Group, 1998*), il costo di un singolo trattamento rimane sempre proibitivo, stimato intorno a 4458 \$ (*Kamal-Bahl et al., 2002*), e questo fa sì che il farmaco venga somministrato solamente ad un gruppo ristretto di bambini, limitandone gli studi e quindi i suoi sviluppi.

Uno dei problemi è che la gran parte di questi studi ha dimostrato la sua alta efficacia solo sotto stretto controllo sanitario utilizzando tutte le norme viste sulla prevenzione dell'RSV e sotto ideali condizioni, mentre studi osservazionali successivi hanno valutato gli interventi in situazioni più realistiche ed hanno visto che il risultato è ritardato o nullo (*Mitchell et al., 2006*). Comunque l'obiettivo di questi studi è di identificare in quali bambini ad alto rischio e neonati è stato approvato il beneficio della profilassi del Palivizumab, così da identificare le lacune nelle conoscenze esistenti e di fornire consigli per la futura ricerca.

5.1 La somministrazione del Palivizumab nei vari Paesi

Nei vari paesi la scelta dei bambini a cui somministrare il Synagis è diversa. Negli Stati Uniti, l'American Academy of Pediatrics (AAP) raccomanda l'uso del Palivizumab in caso di profilassi per i neonati prematuri con malattie croniche polmonari (CLD), problemi cardiaci congeniti (CHD) o altre malattie croniche e per i bambini nati prima della 29esima settimana. L'AAP raccomanda che i bambini scelti non ricevano più di 5 dosi di Palivizumab nell'arco del periodo di cura. (*Committee on Infectious Diseases and Bronchiolitis Guidelines Committee, 2014*) In Nuova Zelanda consigliano l'utilizzo per i nati nella 28 settimana, per i bambini congedati a casa con l'ossigeno, o per i bambini nati tra la 29-32esima settimana con un peso minore o uguale a 1 Kg (*Vogel et al., 2002*).

In Svezia invece viene somministrato ai bambini nati prima della 26esima settimana (*Swedish Consensus Group, 2001*). E' consigliato per bambini nati tra la 32-35esima settimana in Australia e Canada con 2 o piu fattori di rischio associati all'infezione da RSV (*Ranmuthugala et al., 2008*)

Attualmente il palivizumab non è consigliato per bambini con immunodeficienza, sindrome di down, fibrosi cistica, ostruzione delle vie aeree superiori o altre malattie respiratorie croniche.

6. Discussione

Il primo trattamento che ebbe efficacia nel ridurre l'associazione tra RSV ed ospedalizzazione fu la profilassi col Palivizumab, infatti nell'89-97% è stato dimostrato l'effetto protettivo nei neonati prematuri e nei bambini con CLD /BPD; anche se l'effetto benefico in vivo è risultato modesto rispetto a quello riportato nelle prove cliniche (*The IMPact-RSV Study Group, 1998*). Sebbene siano stati condotti studi nei neonati, nati prima della 36esima settimana che riportano statistiche significative di riduzione dell'ospedalizzazione dovuta a RSV, questi stessi studi non hanno dimostrato un'efficacia nei neonati che presentavano altri fattori di rischio aggiunti; questo fa sì che i risultati siano inconclusi. Un'altro gruppo di prematuri che presenta un effetto benefico nel trattamento con il Palivizumab è quello che comprende i nati tra la 33-35esima settimana con CLD, mentre per quelli nati nello stesso periodo gestazionale ma senza CLD non vi è una significativa riduzione nel tasso di ospedalizzazione (Vogel et al., 2002)

Oltre agli studi effettuati sulla profilassi del Palivizumab su quest'ultimi, sono state fatte altre ricerche su altri neonati che presentavano altre tipologie di rischi, ma nessuno ha dato un'effetto benefico come sui primi.

Uno studio trovò una diminuzione del tasso di ospedalizzazione per RSV tra i bambini con HS-CHD (insufficienza cardiaca congenita, associata a significativa compromissione emodinamica) che ricevevano Palivizumab, ma i risultati davano una riduzione che non era statisticamente significativa e comunque minore di quella delle prove cliniche che era del 45%.

Questa minor riduzione osservata è stata attribuita al fatto che i gruppi di studio non erano stati fatti contemporaneamente, ma in anni diversi e la trasmissione dell'RSV può variare da stagione a stagione.

Essendo l'unico studio osservazionale effettuato sui bambini con HS-CHD ne limita la nostra capacità di trarre conclusioni definitive (*Feltes et al., 2002*)

Negli altri gruppi di bambini ad alto rischio, che non sono coperti con raccomandazioni specifiche nelle linee guida dell'AAP, come quelli con fibrosi cistica e sindrome di Down non è riportata una riduzione significativa nel tasso di

ospedalizzazione. In assenza di dati provenienti da studi osservazionali ben condotti che dimostrano il beneficio del Palivizumab nel mondo reale, le linee guida internazionali sconsigliano l'uso di palivizumab in questi gruppi il quale utilizzo sembra inopportuno (Robinson, 2011)

7. Riflessioni

L'alto costo di un singolo trattamento e i molti studi effettuati in maniera deficitaria, che portano a dei risultati confusi e difficili da interpretare, fanno sì che l'RSV continua ad essere una delle maggiori cause di ospedalizzazione nell'infanzia a livello mondiale.

Quindi per migliorare le ricerche e di conseguenza diminuire le ospedalizzazioni da RSV ci sarebbe bisogno di far sì che tutti gli studi avvengano nella stessa stagione, così da avere risultati effettivamente comparabili tra di loro, e di ricercare il dosaggio ottimale per l'immunoprofilassi rispetto ad onere e costo

Per concludere gli studi effettuati ci suggeriscono che i gruppi di neonati che probabilmente sono quelli che beneficiano di più del farmaco sono: i prematuri nati prima della 32esima settimana e quelli con CLD.

Mentre sono necessari ulteriori studi del palivizumab su bambini con sindrome di Down, fibrosi cistica, HS-CHD e di altri gruppi ad alto rischio così da poter aggiornare le attuali linee guida per immunoprofilassi.

Bibliografia

- Anderson LJ, Dormitzer PR, Nokes DJ, Rappuoli R, Roca A, Graham BS. Strategic priorities for respiratory syncytial virus (RSV) vaccine development. *Vaccine* 2013;31(Suppl. 2): B209e15.
- American Academy of Pediatrics. Respiratory syncytial virus. In: Pickering LKB, C.J., Kimberlin DW, Long SS, editors. *Red Book: 2012 report of the committee on infectious diseases*. 29th ed. Elk Grove Village, IL: American Academy of Pediatrics; 2012. p. 609e18
- Bisgaard H, Flores-Nunez A, Goh A, Azimi P, Halkas A, Malice MP, et al. Study of montelukast for the treatment of respiratory symptoms of post-respiratory syncytial virus bronchiolitis in children. *Am J Respir Crit Care Med* 2008;178(8): 854e60
- Boeckh M, Bowden RA, Berrey MM, et al. Phase I evaluation of a RSV-specific humanized monoclonal antibody (MEDI493) after haematopoietic stem cell transplantation [abstract]. 38th International Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy 1998 Sep 24; 604: 593
- Boyce TG, Mellen BG, Mitchel EF Jr, et al. Rates of hospitalization for respiratory syncytial virus infection among children in Medicaid. *J Pediatr* 2000;137:865–70
- Carbonell-Estrany X. and J. Quero, “Hospitalization rates for respiratory syncytial virus infection in premature infants born during two consecutive seasons,” *Pediatric Infectious Disease Journal*, vol. 20, no. 9, pp. 874–879, 2001
- Carbonell-Estrany X. , Simoes EA, Dagan R, Hall CB, Harris B, Hultquist M, et al. Motavizumab for prophylaxis of respiratory syncytial virus in high-risk children: a noninferiority trial. *Pediatrics* 2010;125(1):e35e51.
- Clark SJ, Beresford MW, Subhedar NV, Shaw NJ. Respiratory syncytial virus infection in high risk infants and the potential impact of prophylaxis in a United Kingdom cohort. *Arch Dis Child* 2000;83:313–6
- Committee on Infectious Diseases and Bronchiolitis Guidelines Committee, “Updated guidance for palivizumab prophylaxis among infants and young children at increased risk

of hospitalization for respiratory syncytial virus infection,” *Pediatrics*, vol. 134, p. e620, 2014

- Corneli HM, Zorc JJ, Majahan P, Shaw KN, Holubkov R, Reeves SD, et al. A multicenter, randomized, controlled trial of dexamethasone for bronchiolitis. *N Engl J Med* 2007; 357(4):331e9

- DeVincenzo JP, Whitley RJ, Mackman RL, ScaglioniWeinlich C, Harrison L, Farrell E, et al. Oral GS-5806 activity in a respiratory syncytial virus challenge study. *N Engl J Med* 2014;371(8):711e22

- Dillman Robert O. , *Principles of Cancer Biotherapy*, Springer, July 2009, pp.304

- Feltes TF, Cabalka AK, Meissner HC, Piazza FM, Carlin DA, Top Jr FH, et al. Palivizumab prophylaxis reduces hospitalization due to respiratory syncytial virus in young children with hemodynamically significant congenital heart disease. *J Pediatr* 2003;143(4):532e40

- Groothuis JR. The role of RSV neutralizing antibodies in the treatment and prevention of respiratory syncytial virus infection in high-risk children. *Antiviral Res* 1994; 23: 1-10

- Hall CB, Walsh EE, Long CE, Schnabel KC. Immunity to and frequency of reinfection with respiratory syncytial virus. *J Infect Dis* 1991;163(4):693e8.

- Heidema J, de Bree GJ, De Graaff PM, van Maren WW, Hoogerhout P, Out TA, et al. Human CD8(p) T cell responses against five newly identified respiratory syncytial virus-derived epitopes. *J Gen Virol* 2004;85(Pt 8):2365e74.

- IMPact-RSV Study Group. Palivizumab, a humanized respiratory syncytial virus monoclonal antibody, reduces hospitalization from respiratory syncytial virus infection in high-risk infants. *Pediatrics* 1998 Sep; 102 (Part 1): 531-7

- Jafri HS, Chavez-Bueno S, Mejias A, Gomez AM, Rios AM, Nassi SS, et al. Respiratory syncytial virus induces pneumonia, cytokine response, airway obstruction, and chronic inflammatory infiltrates associated with long-term airway hyperresponsiveness in mice. *J Infect Dis* 2004;189(10):1856e65

- Johnson S, Oliver C, Prince GA, et al. Development of a humanized monoclonal antibody (MEDI-493) with potent in vitro and in vivo activity against respiratory syncytial virus. *J Infect Dis* 1997 Nov; 176: 1215-24

- Johnson S, Griego SD, Pfarr DS, et al. A direct comparison of the activities of two humanized respiratory syncytial virus monoclonal antibodies: MEDI-493 and RSHZ19. *J Infect Dis* 1999; 180: 35-40

- Kamal-Bahl S., J. Doshi, and J. Campbell, "Economic analyses of respiratory syncytial virus immunoprophylaxis in high-risk infants: a systematic review," *Archives of Pediatrics & Adolescent Medicine*, vol. 156, no. 10, pp. 1034–1041, 2002
- Larranaga CL, Ampuero SL, Luchsinger VF, Carrion FA, Aguilar NV, Morales PR, et al. Impaired immune response in severe human lower tract respiratory infection by respiratory syncytial virus. *Pediatr Infect Dis J* 2009;28(10):867e73
- Law BJ, Carbonell-Estrany X, Simoes EAF. An update on respiratory syncytial virus epidemiology: a developed country perspective. *Respir Med* 2002;96:S1–7.
- Lanari M, Giovannini M, Giuffre L, et al. Prevalence of respiratory syncytial virus infection in Italian infants hospitalized for acute lower respiratory tract infections, and association between respiratory syncytial virus infection risk factors and disease severity. *Pediatr Pulmonol* 2002;33:458– 65.
- Madhi S.A. , L. Kuwanda, C. Cutland, and K. P. Klugman, "Fiveyear cohort study of hospitalization for respiratory syncytial virus associated lower respiratory tract infection in African children," *Journal of Clinical Virology*, vol. 36, no. 3, pp. 215–221, 2006.
- Malley R, DeVincenzo J, Ramilo O, et al. Reduction of respiratory syncytial virus (RSV) in tracheal aspirates in intubated infants by use of humanized monoclonal antibody to RSV F protein. *J Infect Dis* 1998 Dec; 178: 1555-61
- Magro M, Mas V, Chappell K, Vazquez M, Cano O, Luque D, et al. Neutralizing antibodies against the preactive form of respiratory syncytial virus fusion protein offer unique possibilities for clinical intervention. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012; 109(8):3089e94
- Meissner HC, Welliver RC, Chartrand SA, et al. Immunoprophylaxis with palivizumab, a humanised respiratory syncytial virus monoclonal antibody, for prevention of respiratory syncytial virus in high risk infants: a consensus opinion. *Pediatrics* 1999; 18: 223-31
- Mella C, Suarez-Arrabal MC, Lopez S, Stephens J, Fernandez S, Hall M, et al. Innate immune dysfunction is associated with enhanced disease severity in infants with respiratory syncytial virus bronchiolitis. *J Infect Dis* 2013 Feb 15;207(4):564e73.
- Mitchell I. , S. Tough, L. Gillis, and C. Majaesic, "Beyond randomized controlled trials: a "real life" experience of respiratory syncytial virus infection prevention in infancy with and without palivizumab," *Pediatric Pulmonology*, vol. 41, no. 12, pp. 1167– 1174, 2006.

- Nair H. , D. J. Nokes, B. D. Gessner et al., “Global burden of acute lower respiratory infections due to respiratory syncytial virus in young children: a systematic review and meta-analysis,” *The Lancet*, vol. 375, no. 9725, pp. 1545–1555, 2010
- Null DM, Connor EM, Palivizumab Study Group. Evaluation of immunogenicity and safety in children receiving palivizumab for a second RSV season [abstract no. 993]. *Pediatr Res* 1999; 45: 170^a
- Ralston SL, Lieberthal AS, Meissner HC, Alverson BK, Baley JE, Gadomski AM, et al. Clinical practice guideline: the diagnosis, management, and prevention of bronchiolitis. *Pediatrics* 2014;134(5)
- Ranmuthugala G., L. Brown, and B. A. Lidbury, “The burden of disease associated with respiratory syncytial virus in Australia,” Discussion Paper 7(64), National Centre for Social and Economic Modelling, Canberra, Australia, 2008.
- Reduction of respiratory syncytial virus hospitalization among premature infants and infants with bronchopulmonary dysplasia using respiratory syncytial virus immune globulin prophylaxis. The PREVENT Study Group. *Pediatrics* 1997; 99(1):93e9
- Rizzetto M.: L’epatite non A non B (tipo C). Settembre 1990
- Robinson J.L. , “Preventing respiratory syncytial virus infections,” *Paediatrics & Child Health*, vol. 16, no. 8, pp. 488–490, 2011.
- Rutigliano JA, Rock MT, Johnson AK, Crowe Jr JE, Graham BS. Identification of an H-2D(b)-restricted CD8 β cytotoxic T lymphocyte epitope in the matrix protein of respiratory syncytial virus. *Virology* 2005;337(2):335e43
- Sáez-Llorens X, Castaño E, Null D. Safety and pharmacokinetics of an intramuscular humanized monoclonal antibody to respiratory syncytial virus in premature infants and infants with bronchopulmonary dysplasia. *Pediatr Infect Dis J* 1998 Sep; 17: 787-91
- Simoes EA, Groothuis JR, Carbonell-Estrany X, Rieger CH, Mitchell I, Fredrick LM, et al. Palivizumab prophylaxis, respiratory syncytial virus, and subsequent recurrent wheezing. *J Pediatr* 2007;151(1):34e42. e1
- Somers CC, Ahmad N, Mejias A, Buckingham SC, Carubelli C, Katz K, et al. Effect of dexamethasone on respiratory syncytial virus-induced lung inflammation in children: results of a randomized, placebo controlled clinical trial. *Pediatr Allergy Immunol: official publication of the European Society of Pediatric Allergy and Immunology* 2009;20(5): 477e85

- Stevens T.P. , R. A. Sinkin, C. B. Hall, W. M. Maniscalco, and K. M. McConnochie, “Respiratory syncytial virus and premature infants born at 32 weeks’ gestation or earlier: hospitalization and economic implications of prophylaxis,” *Archives of Pediatrics and Adolescent Medicine*, vol. 154, no. 1, pp. 55–61, 2000.
- Subramanian KN, Weisman LE, Rhodes T, et al. Safety, tolerance and pharmacokinetics of a humanized monoclonal antibody to respiratory syncytial virus in premature infants and infants with bronchopulmonary dysplasia. MEDI-493 Study Group. *Pediatr Infect Dis J* 1998 Feb; 17: 110-5
- Swedish Consensus Group, “Management of infections caused by respiratory syncytial virus,” *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, vol. 33, no. 5, pp. 323–328, 2001.
- Ventre k. and Randolph A. Ribavirin for respiratory syncytial virus infection in the lower respiratory tract in infants and young children. *Cochrane Database Syst Rev* 2010
- Vogel A.M. , D. R. Lennon, R. Broadbent et al., “Palivizumab prophylaxis of respiratory syncytial virus infection in high-risk infants,” *Journal of Paediatrics and Child Health*, vol. 38, no. 6, pp. 550–554, 2002
- Zhang L, Mendoza-Sassi RA, Wainwright C, Klassen TP. Nebulized hypertonic saline solution for acute bronchiolitis in infants. *Cochrane Database Syst Rev* 2008

Ringraziamenti

E' finita, finalmente è finita...si è vero sembra brutto dirlo così, ci sono persone che dopo aver finito l'università non vedono l'ora di iniziare a studiare qualcos'altro, ma io non faccio parte di quelle persone.

E' stata una lunga corsa, fatta di molte salite e qualche discesa, ma sicuramente è stata un'esperienza fantastica che mi ha aiutato a crescere, e dove ho conosciuto bellissime persone come Giorgio, Nadia, Ire ed Eli, senza i quali non saprei se sarei riuscito ad arrivare alla fine.

E' stato grazie a loro se tutti questi sacrifici sopra i libri non sono sembrati così stancanti; non mi potrò mai dimenticare le mattine ed i pomeriggi passati a casa di Ire a studiare e a ripetere senza sosta e nemmeno le notti da Nadia a sfinirla fino a quando non mi buttava fuori di casa; i messaggi e le chiamate a Giorgio ed Eli piene di dubbi e tristezza che loro riuscivano sempre a trasformare in allegria e serenità.

Ma soprattutto un grande grazie lo devo a Paolo, che dal primo giorno di università ha fatto sì che tutti questi anni passati in biblioteca non siano sembrati così tristi; dal lunedì al venerdì la mattina ad Ingeneria, e poi la sera ed il fine settimana al polo F (e Alessandra o Francesca ora penseranno: "sì, a guardare le partite", ed è vero, non si può negare che qualche partita l'abbiamo vista, ma forse è proprio grazie a quelle partite ed a quei caffè che il tutto è sembrato più facile e più divertente).

Se posso ringraziare tutte queste persone è solamente perchè ho dei genitori e dei fratelli fantastici che mi sono sempre stati vicini ed hanno fatto sì che tutto questo sia stato possibile, anche nei momenti più bui quando pensavo di non farcela; ho sempre avuto il loro affetto, ma soprattutto non hanno mai smesso di credere in me.

Naturalmente non posso non ringraziare il Prof. Calderone, se sono quì a Febbraio che mi sto per laureare questo è stato grazie a Lui, che ha capito le mie necessità e sempre con un sorriso mi ha spinto a fare gli ultimi sforzi.

L'ultimo ringraziamento lo voglio fare ad Isabel, perchè è vero che tutte queste persone hanno fatto sì che tutto questo sia stato possibile e più bello, ma se non mi sono mai fermato ed ho continuato a lottare, questo lo devo a te amore mio; in ogni salita ed in ogni caduta non mi sono mai arreso perchè sapevo che alla fine di questa corsa avrei trovato te, ed ora, nemmeno a farlo apposta, finito tutto questo manca un mese e tutto sarà possibile.