

VACCINARE

Oggi & Domani

Vol. VI - Fasc. 2 - Anno 2015

ISSN 2038-2995



VACCINARE

Oggi & Domani

Trimestrale
Volume VI - Fascicolo 2 - anno 2015

ISSN 2038-2995

Direttore Scientifico
Nicola Principi

Segretaria di Redazione
Susanna Esposito

Comitato di Redazione
Chiara Azzari, Paolo Bonanni,
Giampietro Chiamenti, Paolo Durando,
Antonio Ferro, Milena Lo Giudice,
Fabrizio Pregliasco, Rocco Russo,
Francesco Vitale

Comitato Scientifico
Marta Ciofi degli Atti, Daniela D'Alessandro,
Maurizio De Martino, Domenico De Mattia,
Gaetano Maria Fara, Roberto Ieraci,
Alessandro Maida, Gian Luigi Marseglia,
Alessandro Plebani, Alberto Tozzi

Direttore Responsabile
Maurizio Cuzzolin

Editore



CUZZOLIN Srl

Trav. M. Pietravalle, 4 - 80131 Napoli
Telefono +39 081 5451143
Fax +39 081 7707340
cuzzolineditore@cuzzolin.it
www.cuzzolineditore.com

Redazione
CUZZOLIN Srl

Trav. M. Pietravalle, 4 - 80131 Napoli
Telefono +39 081 5451143
Fax +39 081 7707340
cuzzolineditore@cuzzolin.it
www.cuzzolineditore.com

Registrazione n 29 del 12.04.2010
del Tribunale di Napoli

Stampa
Officine Grafiche Francesco Giannini & Figli
S.p.A. (Na)

Abbonamento annuo
€ 30,00

Indice

Pag. 27

LO STUDIO CAPITA (COMMUNITY ACQUIRED PNEUMONIA IMMUNIZATION TRIAL IN ADULTS): NUOVE EVIDENZE SCIENTIFICHE DELLA VACCINAZIONE PNEUMOCOCCICA NELL'ADULTO

Francesco Vitale

Pag. 31

RAPPORTO TRA SINDROME DI GUILLAIN-BARRÉ E VACCINAZIONE ANTINFLUENZALE

Giovanni Ara †, Franco Giovanetti, Rocco Russo

Pag. 36

LA VACCINAZIONE CONTRO L'ENCEFALITE DA ZECCHIE

Antonio Ferro, Federica Ingianni, Michela Longone

Pag. 41

L'IMPATTO DEI VACCINI PNEUMOCOCCICI CONIUGATI A 10 E 13 COMPONENTI SULLA EPIDEMIOLOGIA DELLE INFEZIONI PNEUMOCOCCICHE INVASIVE DOVUTE AL SIEROTIPO 19A

Nicola Principi, Susanna Esposito



LO STUDIO CAPITA (COMMUNITY ACQUIRED PNEUMONIA IMMUNIZATION TRIAL IN ADULTS): NUOVE EVIDENZE SCIENTIFICHE DELLA VACCINAZIONE PNEUMOCOCCICA NELL'ADULTO

Francesco Vitale

Dipartimento di Scienze per la Promozione della Salute e Materno-Infantile "G. D'Alessandro" – Università degli Studi di Palermo

La polmonite pneumococcica acquisita in comunità (CAP pneumococcica), è la principale forma clinica di malattia pneumococcica negli adulti, rappresentando ancora oggi un importante problema di sanità pubblica.

Infatti, nell'ultimo decennio, l'aumento dell'antibiotico-resistenza, insieme con le elevate morbosità e mortalità, soprattutto per le fasce d'età più avanzate, hanno comportato un incremento del numero e della durata delle ospedalizzazioni, influenzando notevolmente i costi sanitari associati a tale patologia (1).

Esiste quindi negli adulti la chiara esigenza medica di un vaccino efficace per prevenire la malattia pneumococcica, ed in particolare la CAP pneumococcica.

In letteratura è ben documentato il successo dei programmi di immunizzazione con il vaccino pneumococcico coniugato 13-valente (PCV13) nella popolazione infantile; tuttavia, l'immunità di gregge derivante dalla vaccinazione pediatrica non è risultata adeguata a contenere in modo soddisfacente il rischio di patologia pneumococcica nell'adulto e nell'anziano. È quindi fondamentale considerare la necessità, per tali soggetti, di un programma di vac-

cinazione dedicato ed oggi l'utilizzo di PCV13 (vaccino autorizzato per tutte le fasce di età) è raccomandato dalle autorità sanitarie anche nei soggetti di età ≥ 65 anni. Negli anziani il vaccino coniugato può essere infatti più efficace e meglio tollerato rispetto al vaccino polisaccaridico 23-valente (PPV23), che in termini di efficacia, ha dimostrato di prevenire le IPD, ma non le CAP.

Le prove di efficacia di PCV13 sono oggi disponibili grazie allo studio CAPITA (Community Acquired Pneumonia Immunization Trial in Adults), trial clinico di fase 4 randomizzato e controllato con placebo, i cui obiettivi, primario e secondari, erano stabilire negli adulti di età ≥ 65 anni l'efficacia del PCV13 nel prevenire un primo episodio di CAP pneumococcica confermata da sierotipi vaccinali (VT-CAP, vaccine-type CAP), di CAP pneumococcica non batteriemicca/non invasiva (NB/NI VT-CAP) e di malattia pneumococcica invasiva VT (VT-IPD) (2). La stessa Food and Drug Administration (FDA), infatti, alla fine del 2011, in seguito all'attuazione del programma di autorizzazione del PCV13 per la prevenzione delle polmoniti e delle forme invasive causate da pneu-

mococchi nei soggetti adulti e anziani, ha richiesto un trial clinico di conferma di efficacia (3).

Lo studio CAPITA, condotto dall'Università di Utrecht in Olanda con la partecipazione di 59 centri clinici sentinella, rappresenta sicuramente uno dei più vasti trials prospettici sull'efficacia vaccinale mai condotti negli adulti. Sono stati arruolati infatti circa 85.000 adulti di età ≥ 65 anni e la scelta della popolazione olandese è stata motivata dal fatto che in quella nazione era scarsamente utilizzato il PPV23.

Grande attesa c'è stata nella comunità scientifica per i risultati dello studio, che per la prima volta sono stati presentati al 9° Congresso Internazionale sullo Pneumococco e Malattia Pneumococcica (ISPPD) svoltosi a Hyderabad (India) nel marzo 2014, indicando il raggiungimento sia dell'obiettivo primario sia di quelli secondari (4).

Il PCV13 si è dimostrato efficace nel prevenire negli anziani un primo episodio di VT-CAP con un'efficacia (Vaccine Efficacy, VE) del 45,56% (95,2% 21,82%-62,49%, $p=0,0006$), un primo episodio di NB/NI VT-CAP con una VE del 45,00% (95,2% 14,21%-65,31%, $p=0,0067$) ed un primo



episodio di VT-IPD con una VE del 75,00% (95,2% 41,43%-90,78%, $p=0,0005$). Risultati di efficacia, questi, sorprendenti, che hanno dimostrato, unitamente ai dati relativi alla sicurezza riscontrati nello stesso studio, l'eccellente profilo del PCV13.

Altri importanti risultati dello studio CAPiTA sono stati presentati in occasione dell'IDWeek, (Philadelphia 8-12 ottobre 2014), nel corso dell'annuale Congresso organizzato negli Stati Uniti dalla Società Americana di Malattie Infettive (Infectious Diseases So-

fornita dal PCV13 (durata media del follow-up 3,97 anni) (5). Nel corso del trial è stato studiato il pattern di efficacia nel tempo ed è stata fatta una stima degli effetti della vaccinazione, del tempo dalla vaccinazione e dell'interazione tempo-vaccinazione sull'evento "VT-IPD, NB/NI-VT-CAP o VT-IPD". I risultati hanno dimostrato per tutti gli endpoints dello studio effetti significativi della vaccinazione nel tempo. La tabella I mostra, ad esempio, la VE nel tempo per la VT-CAP (VE per anno dalla vaccinazione).

tipi nelle CAP nell'adulto. Tali risultati assumono particolare rilievo in considerazione del fatto che, relativamente ai sierotipi inclusi nel PCV13, sono stati ottenuti in un setting in cui i vaccini pneumococcici coniugati sono stati inseriti nel programma di immunizzazione infantile dal 2006 (PCV7 introdotto nel 2006 con una scheda 3+1 e poi sostituito dal vaccino pneumococcico coniugato 10-valente – PCV10 – nel 2011 raggiungendo una copertura vaccinale del 95%) ed in più il PPV23 non è mai stato somministrato di routine agli adulti di età ≥ 65 anni (6). L'identificazione del sierotipo è stata possibile grazie all'isolamento di *Streptococcus pneumoniae* da un sito sterile per le forme invasive e/o all'utilizzo, per le forme non invasive, specificamente per lo studio CAPiTA, del rilevamento dell'antigene urinario sierotipo-specifico (test SSUAD), per ognuno dei 13 sierotipi contenuti in PCV13. I risultati dell'analisi della distribuzione dei sierotipi inclusi nel PCV13, complessivamente e nei soggetti del gruppo che ha ricevuto placebo (gruppo rappresentativo della popolazione olandese di età ≥ 65 anni) sono stati descritti per ogni anno di studio. Ne è emerso che tutti i 13 sierotipi inclusi nel PCV13 sono stati riscontrati nei primi episodi di VT-CAP per tutta la durata dello studio, in particolare i sierotipi 1, 3, 7F e 19A. Questo ha dimostrato che, nonostante il programma di immunizzazione infantile in Olanda abbia previsto la somministrazione del PCV10, i più frequenti sierotipi osservati negli adulti con CAP includevano i sierotipi 1 e 7F. I sierotipi inclusi nel PCV7 (ed an-

Tabella I Stime di efficacia vaccinale (VE) per la VT-CAP, p-values

ENDPOINT	ANNI DALLA VACCINAZIONE	EFFICACIA VACCINALE (VE)(%)	P-VALUE
VT-CAP	1	45,45%	0,1214
	≤ 2	50,00%	0,0076
	≤ 3	42,86%	0,0054
	≤ 4	44,05%	0,0016
	≤ 5	45,56%	0,0006

Modificata da Patterson S.

ciety of America, IDSA) con la collaborazione di altre importanti società/associazioni scientifiche (Società Americana di Epidemiologia Clinica, Society for Healthcare Epidemiology of America – SHEA; Associazione Medica per l'infezione da HIV, HIV Medicine Association – HIVMA; Società di Malattie Infettive Pediatriche, Pediatric Infectious Diseases Society – PIDS).

Tra questi, sicuramente degni di nota i risultati presentati da Patterson sulla valutazione della persistenza nel tempo della protezione

Le analisi hanno dimostrato effetti statisticamente significativi della vaccinazione per tutti gli endpoints dello studio (VT-CAP, NB/NI-VT-CAP, e VT-IPD), effetti nel tempo che si sono dimostrati in accordo con le stime di VE e con la naturale variazione temporale dell'incidenza della malattia osservata. La protezione si instaura quindi poco dopo la vaccinazione e rimane stabile nel tempo.

Altrettanto interessanti i dati presentati nella poster session sulla distribuzione nel tempo dei sierotipi

che nel PCV10) dunque persistono nella popolazione con una prevalenza che è rimasta stabile per tutta la durata dello studio; in più, non c'è alcuna evidenza di un cambiamento nella frequenza dei sierotipi addizionali di PCV13.

Sessione altrettanto interessante quella in cui sono stati presentati i dati dell'analisi di immunogenicità che ha coinvolto 2.011 soggetti di tutti quelli arruolati nello studio CAPiTA (7). Campioni di sangue prelevati a specifici time-points (al baseline – prima della vaccinazione, ad 1 mese, a 12 mesi ed a 24

mesi dalla vaccinazione) sono stati analizzati per il rilevamento dei titoli dell'attività opsonofagocitica sierotipo specifica (titoli OPA) e delle concentrazioni di IgG (in $\mu\text{g}/\text{mL}$) per il polisaccaride capsulare per tutti i sierotipi inclusi in PCV13 confrontandoli con i livelli riscontrati in coloro che avevano ricevuto il placebo. I risultati dell'analisi mostrano che sia i livelli dei titoli OPA che quelli delle IgG per tutti i sierotipi sono aumentati in modo significativo già un mese dopo la vaccinazione con PCV13 (rispetto ai valori del baseline),

con rapporti PCV13 versus placebo variabili a seconda del sierotipo, sia per i titoli medi geometrici OPA (OPA GMT) che per le concentrazioni medie geometriche delle IgG (GMC IgG), in tutti i time-points (Tab. II) e con trend simili in tutti i gruppi di età (65-70 anni, 70-80 anni e ≥ 80 anni). Ciò dimostra che le risposte anticorpali ci sono ancora fino a due anni dopo la vaccinazione, senza differenze legate all'età. Questi dati di immunogenicità sicuramente sono a supporto dei risultati di efficacia del PCV13 in questa popolazione.

Tabella II Persistenza della risposta immune a PCV13 nell'anziano

TIME-POINTS DOPO LA VACCINAZIONE	RAPPORTO TITOLI MEDI GEOMETRICI OPA (GMT) PCV13 VERSUS PLACEBO (RANGE)	RAPPORTO CONCENTRAZIONI MEDIE GEOMETRICHE (GMC) PCV13 VERSUS PLACEBO (RANGE)
1 mese (T1)	4,4* - 62,6§	2,97 ^a - 12,12 ^a
12 mesi (T12)	2,2* - 13,9§	1,66 ^a - 5,72 ^a
24 mesi (T24)	1,6* - 8,0§	1,56 ^a - 4,76 ^a

Adattata da (7). Note: * sierotipo 9V; §sierotipo 4; ^a sierotipo 3; ^a sierotipo 18C.

L'attenta analisi di questi importanti risultati ottenuti con il CAPiTA, in termini di efficacia, di durata della protezione garantita dal PCV13 e di risultati di immunogenicità, nonché di circolazione di sierotipi durante il corso dello studio, non potrà far altro che fornire elementi chiave per i decisori nella scelta delle strategie vaccinali più idonee e darà supporto agli operatori di Sanità Pubblica per la vaccinazione diretta degli anziani. Il PCV13 ha dimostrato di essere efficace e di fornire una protezione duratura in questi soggetti. Solo un programma di vaccinazione dedicato per gli anziani, già messo in atto in alcune Regioni italiane,

potrà garantire un'efficace protezione della popolazione generale e certamente i dati di efficacia "sul campo", che verranno da diversi studi ad oggi in corso in Italia, verosimilmente consolideranno i risultati del CAPiTA, a dimostrazione che il vaccino funziona anche nella "real life" indipendentemente dal setting geografico.

Bibliografia

1. Bonafede M.M., Suaya J.A., Wilson K.L., Mannino D.M., Polsky D.: *Incidence and cost of CAP in a large working-age population*. Am J Manag Care. 2012 Jul; 18(7): 380-7.

2. Hak E.1., Grobbee D.E., Sanders E.A., Verheij T.J., Bolkenbaas M., Huijts S.M., Gruber W.C., Tansey S., McDonough A., Thomas B., Patterson S., van Alphen A.J., Bonten M.J.: *Rationale and design of CAPiTA: a RCT of 13-valent conjugated pneumococcal vaccine efficacy among older adults*. Neth J Med. 2008 Oct; 66(9): 378-83.

3. Food and Drug Administration. <http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm285431.htm>.

4. Bonten M., Bolkenbaas S., Huijts S. et al.: *Community acquired pneumonia immunization trial in adults (CAPiTA)*. IX Int'l Symposium on Pneumococci and Pneumococ-



- cal Diseases, 2014 (ISPPD-0541).
5. Patterson S., Webber C., Drews W., Huijts S.M., Bolkenbaas M., Grobbee D.E., Gruber W.C., M.D., Scott D.A., Bonten M.J.M.: *A Post-Hoc Assessment of Duration of Protection in CApiTA (Community Acquired Pneumonia Immunization Trial in Adults)*. Oral Section. IDWeek October 8-12, 2014, Philadelphia, PA. Available at: <https://idsa.confex.com/idsa/2014/viewsessionpdf.cgi>.
6. Hollingsworth R., Huijts S.M., Bolkenbaas M., Webber C., Gault S., Patterson S.D., Gruber W., Grobbee D.E., Bonten M.: *Serotype Distribution of S. pneumoniae Community Acquired Pneumonia (CAP) in Adults in the Netherlands in the CApiTA (Community-Acquired Pneumonia Immunization Trial In Adults) Study Period*. Poster Section Vaccines. IDWeek October 8-12, 2014, Philadelphia, PA. Available at: <https://idsa.confex.com/idsa/2014/viewsessionpdf.cgi>.
7. Van Deursen A.M.M., Sanders E.a.M., Webber C., Patton M., Scott D.a., Sidhu M., Drews W., Bonten M.: *13-Valent Pneumococcal Conjugate Vaccine (PCV13) Immunogenicity in the Community Acquired Pneumonia Immunization Trial In Adults (CApiTA)*. Poster Section Vaccines. IDWeek October 8-12, 2014, Philadelphia, PA. Available at: <https://idsa.confex.com/idsa/2014/viewsessionpdf.cgi>.

RAPPORTO TRA SINDROME DI GUILLAIN-BARRÉ E VACCINAZIONE ANTINFLUENZALE

Giovanni Ara¹ †, Franco Giovanetti², Rocco Russo³

¹ Dipartimento di Prevenzione ASL Biella († 13 luglio 2014)

² Dipartimento di Prevenzione ASL CN2 Alba Bra

³ Unità Operative Materno-Infantili AA.SS.LL. Benevento e Napoli1

La sindrome di Guillain-Barré (SGB) rappresenta una patologia nosologica complessa e pleomorfa del sistema nervoso periferico. Essa è caratterizzata da una infiammazione acuta, rapidamente progressiva ad interessamento precipuo dei nervi motori, che causa debolezza muscolare e lieve perdita della sensibilità nei segmenti distali, sebbene possa coinvolgere anche l'innervazione sensitiva e autonoma.

A tutt'oggi l'esatta origine non è stata ancora del tutto chiarita; anche se è stata ipotizzata una eziologia di natura autoimmune.

Sembra, infatti, che alla base della SGB ci sia una anomala risposta immunitaria sia umorale che cellulo-mediata, contro gli antigeni della mielina, a seguito di tutta una serie di fattori come un episodio infettivo virale aspecifico e/o di altra natura.

Tali infezioni possono essere sistemiche o interessare un singolo apparato come nel caso del *Campylobacter jejuni* e dell'*Helicobacter pylori* localizzati nell'apparato gastrointestinale e/o del *Mycoplasma pneumoniae* situato prettamente nelle vie aeree.

L'insorgenza della SGB è stata anche correlata alle vaccinazioni come quella antirabbica, antiinfluen-

zale, anti-morbillo-parotite-rosolia e antipolio tipo Sabin.



Epidemiologia e varianti cliniche

Nel mondo l'incidenza della SGB viene stimata intorno allo 0,6-4 casi per 100.000 anno. Lo spettro clinico della SGB è eterogeneo. Essa comprende differenti varianti. Tra queste vanno annoverate la poliradiculoneuropatia demielinizante infiammatoria acuta (AIDP), i sottotipi assonali ossia la neuropatia acuta assonale motoria

(AMAN) e la neuropatia assonale sensitivo-motoria (AMSAN) e la sindrome di Miller Fisher.

L'AIDP è la forma di SGB più diffusa in Europa con una incidenza del 90%-95%. È caratterizzata da una perdita di forza che parte generalmente dagli arti inferiori per poi estendersi al tronco, agli arti superiori e infine ai muscoli ad innervazione bulbare, con un pattern noto come: "paralisi ascendente di Landry". I muscoli prossimali e distali sono coinvolti in modo relativamente simmetrico, tuttavia il 9% dei pazienti sembra presentare una evoluzione asimmetrica della malattia. L'esordio è graduale e progredisce nell'arco di giorni o settimane. Nei casi ad esordio improvviso, le fasi iniziali sono comunemente caratterizzate da disturbi della sensibilità tattile e dalla comparsa di dolore muscolare. La perdita di forza può essere tale da comportare l'impossibilità alla deambulazione e, nelle fasi più avanzate, sfociare finanche in una tetraplegia flaccida.

Le forme assonali (AMAN, AMSAN) rappresentano generalmente il 3-5% dei casi di SGB nei paesi occidentali, mentre in Asia e nell'America Latina raggiungono una frequenza del 30-50% dei ca-



si. L'AMAN è contraddistinta da un rapido esordio e da una precoce debolezza muscolare con assenza di riflessi. L'andamento clinico della AMAN tende ad essere più grave rispetto a quello osservato per le altre forme più frequenti di SGB con demielinizzazione analoga a quella dell'AIDP. Molti pazienti necessitano del supporto della ventilazione artificiale a causa della grave compromissione dei muscoli respiratori. Tuttavia, nella gran parte dei casi di AMAN non sono riportati disturbi sensoriali e raramente sono coinvolti i nervi cranici. Nella gran parte dei casi, l'AMAN segue ad una enterite da *Campylobacter jejuni*, per la quale è stata riportata un Odds Ratio (OD) pari a 9,5.

Questo agente è di particolare rilievo a causa delle similitudini antigeniche tra le strutture lipopolisaccaridiche della parete batterica di alcuni ceppi e taluni costituenti mielini. Pertanto una recente infezione da *Campylobacter jejuni* potrebbe essere la causa scatenante della malattia, attraverso un meccanismo di mimetismo molecolare o di cross-reazione con la formazione di autoanticorpi diretti contro la mielina.

Sebbene non siano stati ancora ben definiti i meccanismi etiopatogenetici, l'AMAN sembra associarsi alla produzione di anticorpi antigangliosidi (essenzialmente anti-GM1/GD1a) con la conseguente degenerazione assonale primitiva mediata dagli anticorpi e/o all'inibizione mediata dagli anticorpi contro i canali del sodio voltaggio-dipendenti. Anche se il decorso clinico dell'AMAN all'esordio può essere grave, la remissione può verificarsi in

tempi brevi. Tuttavia, il suo decorso è molto più lungo nei pazienti che presentano una degenerazione assonale diffusa e massiva.

La sindrome di Miller-Fisher ha come stimate l'oftalmoplegia esterna acuta, l'atassia e l'ariflessia. In alcuni casi si osserva un papilledema, che pur non essendo clinicamente rilevante, comporta compromissione della vista. L'incontinenza e/o la ritenzione urinaria rappresentano una complicanza, per quanto transitoria, riportata nel 20% circa dei casi. In circa 2/3 dei pazienti una infezione del sistema gastroenterico precede l'insorgenza dei sintomi neurologici. I riflessi osteotendinei vanno perduti generalmente già nelle fasi iniziali della malattia, ma talvolta sono conservati a lungo.

Questa variabilità può creare confusione nel momento della diagnosi. In alcuni casi può essere coinvolto anche il sistema nervoso autonomo. Possono verificarsi instabilità della pressione arteriosa e della frequenza cardiaca con episodi di grave bradicardia e talora asistolia ed ipotensione posturale. Alcuni pazienti richiedono persino l'impianto di un pacemaker cardiaco temporaneo.

È pertanto doveroso sottoporre tali pazienti ad un attento monitoraggio cardiovascolare.

Esami di laboratorio e diagnosi

L'esame del liquido cerebrospinale rappresenta il gold-standard ai fini diagnostici della SGB. L'esame chimico-fisico del liquor cefalo-rachidiano evidenzia il patognomnico aumento delle proteine, che risultano essere più che raddop-

piate rispetto al limite superiore della norma, con un livello di glucosio normale e assenza di pleiocitosi con un rilievo di meno di 10 globuli bianchi/mm³. La dissociazione tra l'alto contenuto proteico del liquido cerebrospinale e la riduzione delle cellule in un paziente con polineuropatia acuta e subacuta sono indicativi per un quadro di certezza di sindrome di Guillain-Barré. Gli esami colturali per la ricerca di batteri risultano negativi ed è raro che si riescano ad isolare virus specifici. La velocità di conduzione motoria è molto ridotta e spesso anche il tempo di conduzione delle fibre sensitive è basso. L'elettromiografia evidenzia la presenza di una denervazione acuta del muscolo. Gli anticorpi antigangliosidi, soprattutto anti-GM1 e GD1, subiscono un incremento in alcuni casi, soprattutto quando l'interessamento assonale è prevalente rispetto alla demielinizzazione, implicando che questi talora possano giocare un ruolo importante nella progressione e/o risoluzione della malattia. I test sierologici per le infezioni da *Campylobacter* ed *Helicobacter pylori* aiutano a chiarire la causa dependendo per un buon esito della malattia, senza che ciò vada ad influenzare il piano terapeutico.

Trattamento

I pazienti nella fase iniziale della malattia acuta dovrebbero essere ricoverati in ospedale per essere strettamente monitorati poiché la paralisi ascendente può estendersi rapidamente ai muscoli respiratori già durante le prime 24 ore dall'esordio. I soggetti in cui la progres-

sione è lenta e che sono clinicamente stabili possono essere semplicemente messi in osservazione andando spesso in remissione spontanea senza alcun tipo di terapia. Il trattamento di base della paralisi ascendente rapidamente progressiva si basa sulla somministrazione di immunoglobuline e, in caso di insuccesso, plasmaferesi e/o farmaci immunosoppressori.

Prognosi

Il decorso clinico è generalmente benigno con un recupero spontaneo che inizia entro 2-3 settimane. La maggior parte dei pazienti recupera completamente la forza muscolare anche se in alcuni casi può residuare un lieve deficit di forza. Solitamente i riflessi osteotendinei sono l'ultima funzione ad essere recuperata. La *restitutio ad integrum* segue un ordine inverso a quello della presentazione della malattia. La funzione bulbare è la prima a migliorare, mentre la risoluzione della perdita di forza agli arti inferiori caratterizza l'ultima fase di risoluzione della malattia. Anche se nella maggioranza dei casi la prognosi è buona, bisogna tenere presente che esistono alcune variabili cliniche che possono pesare in maniera rilevante sulla prognosi della malattia, quali ad esempio la compromissione dei nervi cranici, manifestazioni cliniche che richiedono una intubazione ed una grave disabilità all'esordio. La elettromiografia e lo studio della velocità di conduzione nervosa non sono sempre predittivi dell'evoluzione clinica della SGB.

Sindrome di Guillain-Barré e vaccinazione antinfluenzale

Ad oggi, la principale preoccupazione sui vaccini antinfluenzali, particolarmente H1N1, riguarda l'insorgenza di eventi avversi di natura neurologica come, ad esempio GBS. L'esigenza di stabilire una adeguata e condivisa definizione di GBS e di una sua variante, quale la sindrome di Fisher, dopo vaccinazione, ha indotto la *Brighton Collaboration* a stilare una linea guida, nella quale l'associazione con il vaccino viene valutata in presenza di una specifica sintomatologia neurologica, insorta entro sei settimane dalla somministrazione del vaccino. Durante la campagna vaccinale antinfluenzale (A/H1N1/New Jersey) americana del 1976, nelle cinque settimane successive alla vaccinazione (intervallo medio 3,9 settimane), veniva riscontrato un aumento dei casi di SGB (1 caso su 100.000 vaccinati), con un rischio relativo pari a 6,2 volte maggiore rispetto ai soggetti non vaccinati. Anche se tale rischio era maggiore nei soggetti di età superiore ai 25 anni, risultava difficile dimostrare con certezza un nesso di causalità. Un rilevante aumento dei casi di SGB è stato riportato in pochissime altre stagioni antinfluenzali mentre in quasi tutte le altre è stata esclusa una possibile associazione. Uno studio ha cercato di dare una spiegazione all'incremento dei casi di GBS dopo vaccinazione antinfluenzale ipotizzando che il vaccino potesse contenere frazioni contaminanti (ad esempio antigeni *C. jejuni*, derivati dalle uova contaminate, usate per la preparazione del vaccino), che avrebbero potuto innescare

nei soggetti suscettibili una risposta anticorpale anti-GM1. Tuttavia, gli stessi Autori hanno riportato che, sebbene il *C. jejuni* non sia stato rilevato nei lotti di vaccino antinfluenzale utilizzato nel 1976, lo stesso vaccino (così come i vaccini della stagione 1991-1992 e 2004-2005) inoculato nei topi (C3H/HeN), aveva indotto comunque una specifica risposta anticorpale (IgG e IgM) anti GM1. Nel tempo questa associazione è stata oggetto di vari studi la cui analisi circa il rapporto rischio-beneficio ha mostrato un bilancio a favore della vaccinazione antinfluenzale, sebbene i dati suggeriscano un possibile effetto trigger (es. suscettibilità genetica, pregressi interventi chirurgici, etc.) della vaccinazione antinfluenzale sull'esordio di alcuni casi di GBS. Per cercare di fare ulteriore chiarezza sul possibile rapporto di causalità tra vaccinazione anti-influenzale e SGB, il Centro Europeo per il Controllo e la Prevenzione delle Malattie (ECDC) ha condotto uno studio *self controlled case* (soggetti con l'evento solo tra i vaccinati, che non vengono confrontati con un gruppo di controllo, in quanto essi stessi operano anche come controlli), coinvolgendo un network di Istituti di ricerca e Sanità pubblica e di Agenzie regolatorie Europee - il VAESCO (*Vaccine Adverse Event Surveillance and Communication*) - con il solo fine di stimare l'incidenza della SGB durante la campagna di vaccinazione contro H1N1 condotta nella stagione 2009 in 5 Paesi Europei (Danimarca, Francia, Olanda, Svezia ed Inghilterra). Dopo aver analizzato circa 50 milioni di persone vaccinate e bilanciato i dati per al-



cuni fattori di rischio che predispongono alla malattia neurologica (come le infezioni del tratto respiratorio), i ricercatori hanno trovato che la vaccinazione di massa non ha influito sul numero di casi di SGB che si verificano spontaneamente ogni anno. In merito al rapporto tra vaccinazione antinfluenzale e sindrome di Guillain-Barré, lo stesso *Institute Of Medicine of the National Academies* (IOM) ha espresso una valutazione comune anche per una serie di vaccini studiati (morbillo-parotite-rosolia, varicella, epatite A, epatite B, papillomavirus, difto-tetano, difto-tetano-pertosse acellulare, meningococco), che ritiene “inadeguate” le prove finalizzate ad accettare o rifiutare uno specifico nesso di causalità. L'inadeguatezza del dato viene ritenuta essere il

frutto dei vari elementi confondenti, tra i quali: la specifica infezione influenzale stagionale e la diversità dei ceppi influenzali che annualmente costituiscono il vaccino. Per quanto attiene la sicurezza della vaccinazione antinfluenzale in gravidanza, uno studio retrospettivo su una coorte di 223.898 donne in gravidanza (75.906 vaccinate, di cui il 28,4% nel primo trimestre; e 147.992 non vaccinate) tra il 1 giugno 2002 ed il 31 luglio 2009 (dati di VSD: *Vaccine Safety Datalink*), nei 42 giorni successivi all'esecuzione della vaccinazione antinfluenzale trivalente inattivata, non rileva alcuna correlazione tra questo tipo di vaccinazione e la SGB. Un studio finanziato dal *Canadian Institutes of Health Research* ha confermato il dato del basso rischio di SGB do-

po la vaccinazione antinfluenzale. Esso ha inoltre messo a confronto questi specifici dati con quelli riportati in altri lavori (compresi quelli che hanno valutato il rischio di SGB dopo una specifica infezione influenzale) (Tab. I), evidenziando il dato interessante che 1 caso su 971.567 soggetti vaccinati presenta il rischio di ammalarsi di SGB a fronte di 1 caso su 58.108 soggetti che contraggono l'influenza.

Rischio di recidive della sindrome di Guillain-Barré dopo successive vaccinazioni

In letteratura esistono pochi dati circa il rischio di recidive della GBS dopo successive vaccinazioni. I primi casi isolati di recidiva

Tabella I Rischio relativo di sindrome Guillain-Barré dopo vaccinazione antinfluenzale stagionale e sindrome influenza

	INFLUENZA STAGIONALE	ETÀ	DISEGNO DELLO STUDIO	PERIODO DI RISCHIO	RISCHIO RELATIVO STIMATO (95% CI)
Vaccinazione antinfluenzale					
Lasky et al, 1998	1992-1994	≥18 anni	Coorte	42 giorni	1-7 (1.0-2.8)
Juurlink et al, 2006	1992-2004	≥18 anni	SCCS	2,7 settimane	1-45 (1.05-1.99)
Hughes et al, 2006	1992-2001	Tutte le età	SCCS	42 giorni	0.99 (0.32-3.12)
Tam et al, 2007	1991-2001	Tutte le età	Caso-controllo	60 giorni	0.16 (0.02-1.25)
Stowe et al, 2009	1990-2005	Tutte le età	SCCS	90 giorni	0.76 (0.41-1.40)
Greene et al, 2012	2009-2010	Tutte le età	SCRI	42 giorni	1.3 (0.5-3.8)
Wise et al, 2012	2009-2010	Tutte le età	Coorte	42 giorni	1.43 (0.94-1.89)
Kwong et al	1998-2009	Tutte le età	SCRI	42 giorni	1.52 (1.17-1.99)
Sindrome influenzale					
Tam et al, 2007	1991-2001	Tutte le età	Caso-controllo	60 giorni	18.64 (7.49-46.37)
Stowe et al, 2009	1990-2005	Tutte le età	SCCS	30 giorni	16.64 (9.37-29.54)
Kwong et al	1993-2009	Tutte le età	SCRI	42 giorni	15.81 (10.28-24.32)

della malattia furono descritti in 2 pazienti rivaccinati con il ceppo antinfluenzale implicato nell'epidemia del 1976, mentre non sono state descritte recidive in un paziente che aveva ricevuto vaccini con differenti ceppi di virus influenzale nell'arco dei 15 anni successivi all'episodio di sindrome di Guillain-Barré. Un altro studio condotto su pazienti con precedente storia di SGB e/o con poliradiculoneurite infiammatoria cronica ha sottolineato che il rischio di ricomparsa di sintomi neurologici è minimo dopo la vaccinazione e soltanto con sintomi non importanti, compresi i pazienti in cui era stata suggerita una relazione temporale tra l'episodio iniziale e una precedente vaccinazione. In merito alla ricorrenza di SGBS dopo vaccinazione, uno studio osservazionale per un periodo di undici anni, su di una popolazione americana di tre milioni di soggetti, non ha segnalato alcun caso nelle sei settimane successive alla vaccinazione antinfluenzale e dopo qualsiasi altro vaccino.

Conclusione

Pur constatando l'aumento dei casi di SGB (1 caso su 100.000 vaccinati), successivi alla vaccinazione antinfluenzale suina, verificatisi nel 1976, bisogna prendere atto che nelle stagioni successive, questo rischio non è stato avvalorato. Per quanto attiene i dati conclusivi dello studio VAESCO (*Vaccine Adverse Event Surveillance and Communication*), che riportano un lieve aumento dell'incidenza della SGB (percentuale comunque statisticamente non significativa), calcolata

intorno ad un numero inferiore a 3 casi per ogni milione di vaccinati, bisogna considerare che tale incidenza risulta essere influenzata particolarmente dall'utilizzo di vaccini antinfluenzali pandemici adiuvati (AS03), mentre per quelli non adiuvati (AH1N1pdm09) il rischio relativo calcolato, che risulta essere non statisticamente significativo, è di 1.4 (95% CI: 0.7-2.8). A quanto sopra esposto si aggiunge che la tipologia degli studi effettuati presenta dal punto di vista metodologico una serie di elementi confondenti, quali ad esempio il periodo di sorveglianza (almeno 6 settimane) dopo la vaccinazione, che molto spesso si sovrappone a quello epidemico durante il quale si possono avere anche casi di GBS, causati dall'infezione dello stesso virus influenzale. Sarebbe utile anche promuovere una esaustiva informazione al riguardo nella consapevolezza che una delle principali questioni aperte nel campo della sicurezza dei vaccini riguarda proprio le strategie di comunicazione dei risultati degli studi epidemiologici non soltanto alle agenzie regolatorie, ma anche e soprattutto ai cittadini ed al Personale Sanitario che quotidianamente si confronta con questi ultimi, senza escludere quelle figure professionali che vengono coinvolte in ambito giudiziario. Tale obiettivo contribuirebbe ad infondere sempre più la fiducia verso i benefici di uno strumento di prevenzione, quale è per l'appunto la vaccinazione, che superano di gran lunga il rischio di possibili complicanze connesse all'infezione naturale.

Bibliografia

1. Baxter R., Lewis N., Bakshi N., Vellozzi C., Klein N., and the CI-SA Network.: *Recurrent Guillain-Barré Syndrome following vaccination*. Clin Infect Dis 2012; 54: 800-4.
2. Dieleman J., Romio S., Johansen K., Weibel D., Bonhoeffer J., Sturkenboom M.: *Guillain-Barré syndrome and adjuvanted pandemic influenza A (H1N1) 2009 vaccine: multinational case-control study in Europe*. Br Med J 2011; 343: d3908.
3. Iqbal S., Lia R., Gargiullo P., Vellozzi C.: *Relationship between Guillain-Barré syndrome, influenza-related hospitalizations, and influenza vaccine coverage*. Vaccine 2015; 33: 2045-9.
4. Israeli E., Agmon-Levin N., Blank M., Chapman J., Shoenfeld Y.: *Guillain-Barre syndrome-a classical autoimmune disease triggered by infection or vaccination*. Clin Rev Allergy Immunol 2012; 42: 121-30.
5. Kwong J., Vasa P., Campitelli M.A. et al.: *Risk of Guillain-Barré syndrome after seasonal influenza vaccination and influenza health-care encounters: a self-controlled study*. Lancet Infect Dis 2013; 13: 769-76.
6. Stowe J., Andrews N., Wise L., Miller E.: *Investigation of the temporal association of Guillain-Barre syndrome with influenza vaccine and influenza like illness using the United Kingdom general practice research database*. Am J Epidemiol 2009; 169: 382-8.
7. Vellozzi C., Iqbal S., Stewart B., et al.: *Cumulative risk of Guillain-Barré syndrome among vaccinated and unvaccinated populations during the 2009 H1N1 influenza pandemic*. Am J Public Health 2014; 13: e1-e6.



LA VACCINAZIONE CONTRO L'ENCEFALITE DA ZECHE

Antonio Ferro¹, Federica Ingianni², Michela Longone³

¹ Azienda Ulss 20, Verona

² Dipartimento di Sanità Pubblica, Medicina Clinica e Molecolare, Università degli Studi di Cagliari

³ Università degli Studi di Padova

Le malattie più frequenti trasmesse dalle zecche sono la Borreliosi di Lyme e la Meningoencefalite TBE (*Tick Borne Encephalitis*), più raramente la febbre Q e l'erlichiosi. L'encefalite da morso di zecca (o meningoencefalite da zecca o TBE) è una malattia acuta del sistema nervoso centrale trasmessa all'uomo tramite morso di zecca e di altri artropodi ematofagi (zecca del cane ecc.), dovuta ad un virus facilmente inattivato dalla pasteurizzazione e dai comuni disinfettanti. Le zecche vivono normalmente sul terreno, nell'erba, sui cespugli in modo particolare in ambienti montani e silvestri e trasmettono l'infezione attraverso il morso. Nell'ambiente è stato segnalato l'aumento, negli ultimi anni, della presenza delle zecche: questo fatto sembra essere correlato con le modificazioni ecologiche derivanti dall'abbandono delle attività connesse con la pastorizia e dall'introduzione (a scopo venatorio e non) di animali provenienti da altri Paesi.

Epidemiologia

La malattia è diffusa in tutti i Paesi che si affacciano sull'arco alpino. È diffusa inoltre nei Paesi

Scandinavi, in Polonia, nella Repubblica Ceca e Slovacca, in Ungheria, negli Stati Baltici e in Russia (Fig. 1). Una caratteristica importante è la diversità di incidenza negli anni e nei luoghi, in quanto il ciclo biologico consente una grande variabilità della popolazione, dei vettori e dei serbatoi. I focolai sembrano essere localizzati in zone delimitate, dove il ciclo di trasmissione tra zecca e animale serbatoio non viene interrotto.

Secondo l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS), circa 10000-12000 casi di encefalite da zecche sono segnalati ogni anno, ma questa cifra è probabilmente molto inferiore rispetto al totale effettivo. In Italia i casi sono in aumento e si è passati da 2 casi registrati nel 1992 ai 19 casi del 2002 ed è endemica in provincia di Trento (41 casi nel 1997-2006), Belluno e Gorizia (Fig. 2, Tab. I).

Figura 1 Aree, in rosso, di maggiore incidenza di TBE



Figura 2 Aree di maggiore incidenza di TBE in Italia

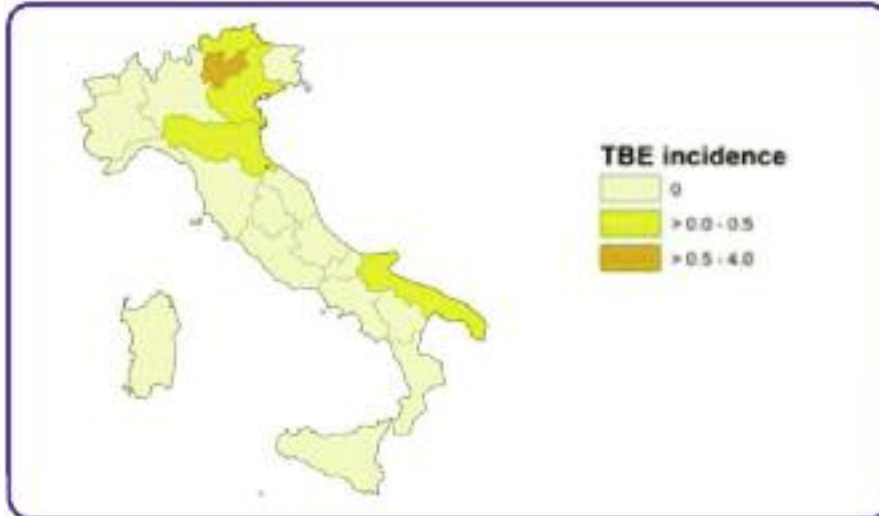


Tabella I Dati di notifica di TBE in Veneto per ULSS di residenza

PROV	ULSS	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	TOTALE
BL	01	11	9	14	19	12	11	9	76
BL	02	5		1	1	4	3		14
VI	03						1		1
VI	04				2		1		3
VI	05			2				4	2
VI	06					2	1		3
TV	07	7	5	4	6	1	6	3	29
TV	08						1		1
TV	09	1	1	1	1		2		6
VE	10			1					1
VE	12	1							1
VE	13	1							1
PD	15					1			1
PD	16						1		1
PD	17				1				1
TOTALE		26	15	23	30	20	27	16	141

Trasmissione

La trasmissione dell'infezione avviene attraverso il morso di zecca infetta (il virus si trova nella saliva della zecca), eccezionalmente tramite puntura di altri insetti ematofagi, dall'ingestione di latte crudo e formaggi fatti con latte non pastorizzato infetto, dall'inalazione di materiale infetto.

È esclusa la possibilità di trasmissione interumana. Diverse sono le cause ambientali che favoriscono la trasmissione dell'infezione, tra le quali la densità della popolazione di zecche, la densità di animali con funzione di serbatoio, quali animali selvatici e domestici, uccelli, roditori ecc. (cervi, caprioli, ovini, più raramente bovini e topi), i fattori climatici (temperatura, umidità), l'importazione nel territorio di animali (domestici e selvatici) provenienti da zone dove l'infezione è più diffusa, il tipo di vegetazione (campi e boschi incolti, mancato sfalcio dei prati) (Fig. 3). La distribuzione e l'incidenza stagionale della TBE rispecchiano la biologia della zecca: massima attività in primavera-estate.

Nell'Europa centrale vengono osservate due punte stagionali: giugno/luglio e settembre/ottobre, che corrispondono alle due ondate di sviluppo delle zecche.

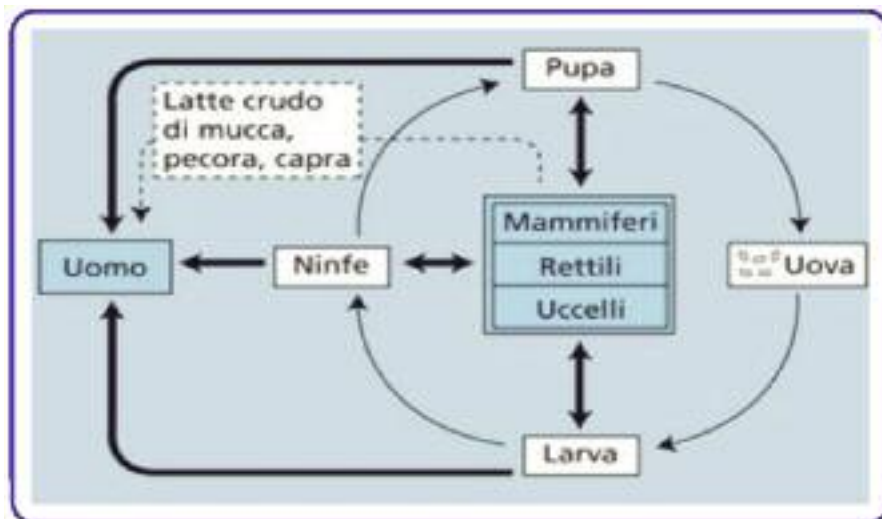
Tuttavia la malattia può essere acquisita in qualunque stagione.

Patogenesi

Il virus si replica nelle cellule epiteliali per poi migrare attraverso i linfonodi regionali nel sangue, infettando così vari organi e tessuti; la moltiplicazione virale nelle cel-



Figura 3 Infezione da virus della TBE: dalla zecca all'uomo



lule endoteliali dei capillari cerebrali porta ad una infezione del Sistema Nervoso Centrale.

Sintomatologia

L'incubazione della malattia va da 2 a 28 giorni (in media circa 8 giorni dal morso).

Nel 70% dei casi l'infezione è asintomatica o si manifesta con sintomi poco rilevanti. Nel restante 30% dei casi, dopo 3-28 giorni dal morso di zecca, si ha una prima fase con sintomi similinfluenzali (febbre alta, mal di testa importante, mal di gola, stanchezza, dolori muscolari e articolari) per alcuni giorni.

Poi la febbre scompare e, solitamente, i sintomi regrediscono senza alcuna conseguenza.

Nel 10-20% di questi casi, però, dopo un intervallo senza sintomi di 8-20 giorni, inizia una seconda fase caratterizzata da segni di coinvolgimento del sistema nervoso

centrale (encefalite, paralisi flaccida). Le complicanze più comuni sono: cefalea, difficoltà di concentrazione, stato depressivo, disturbi del comportamento, paralisi flaccide, ipotrofia muscolare, sindrome neurastenica. La prognosi è strettamente legata all'età: la malattia sembra avere un decorso più mite nei bambini e negli adolescenti; si aggrava con il progredire dell'età. La mortalità è mediamente dell'1-5%. I casi fatali sono l'1-2%.

Diagnosi

La diagnosi di TBE deve essere sospettata in pazienti che ricordino il morso di una zecca, in aree endemiche, nella stagione di trasmissione. Si ottiene analizzando il siero raccolto nella fase iniziale acuta di malattia per la presenza di anticorpi virus-specifici.

Trattamento

Non si conosce al momento alcun trattamento specifico per la TBE; la cura è quindi sintomatica e di sostegno, pertanto nelle persone a rischio è consigliata la vaccinazione con il vaccino TBE. Non è necessario isolare il paziente.

Prevenzione

La prevenzione della malattia comprende la vaccinazione e misure generali di prevenzione.

La vaccinazione

Sono stati preparati due vaccini entrambi contenenti il virus inattivato. Il vaccino in commercio in Italia è disponibile in una preparazione per adulti e una junior per bambini da un anno a 16 anni (la dose per bambini corrisponde alla metà della dose per adulti). Viene somministrato in 3 dosi: al tempo 0, dopo 1-3 mesi e dopo 9-12 mesi; il primo richiamo è previsto dopo 3 anni, un secondo dopo 5 anni (≤ 49 anni) o dopo 3 anni (> 49 anni). La prima e la seconda dose dovrebbero essere somministrate nei mesi invernali, affinché sia garantita la protezione prima dell'inizio dell'attività delle zecche. La terza dose va effettuata prima della stagione successiva. La scheda accelerata prevede 3 dosi: al tempo 0, dopo 14 giorni e la terza dose dopo 5-12 mesi.

Una vaccinazione incompleta (2 dosi invece che 3) fornisce un'immunità parziale, per cui il soggetto può comunque ammalarsi di TBE, in forma più lieve: questa possibi-

lità sottolinea la necessità e importanza di usare la schedula convenzionale o eventualmente quella accelerata. Sulla base degli studi clinici la protezione è assicurata per 3-5 anni. Il vaccino è controindicato in caso malattia acuta in atto che richieda trattamento farmacologico finché non sono passate due settimane dalla guarigione, e in caso di allergia ai componenti del vaccino. La sicurezza del vaccino in gravidanza e allattamento non è ancora stata determinata con accuratezza, pertanto in questi casi è opportuno valutare il rapporto rischio/beneficio. Le reazioni a seguito della somministrazione del vaccino sono locali e transitorie: arrossamento, tumefazione e dolore sono le più comuni. Può essere presente febbre intorno ai 38° e tumefazione dei linfonodi regionali.

La vaccinazione non è raccomandata a tutti, bensì consigliata a particolari categorie: viaggiatori internazionali in aree a rischio, soggetti che per lavoro possono entrare in contatto con le zecche (forestali, guardiacaccia, vigili ambientali, operatori nel campo delle telecomunicazioni, dell'industria elettrica), persone residenti in aree a rischio di morso di zecca, soggetti frequentanti zone boschive a scopo ludico (es. Boy-scouts, campi estivi parrocchiali).

Sono disponibili in commercio anche immunoglobuline concentrate da usare per la profilassi sia pre- che post-esposizione, che possono essere utilizzate pertanto prima dell'esposizione o al massimo 48 ore dopo il morso di una zecca in area endemica. Questo tipo di prevenzione è limitato ai soggetti di età superiore ai 14 an-

ni, in quanto nei bambini non è sempre risultato un successo. Per la profilassi post esposizione il preparato va somministrato alla dose di 0,2 mL/Kg e per la profilassi pre-esposizione di 0,05 mL/Kg. La protezione pre-esposizione inizia 24 ore dopo la somministrazione e dura circa 4 settimane.

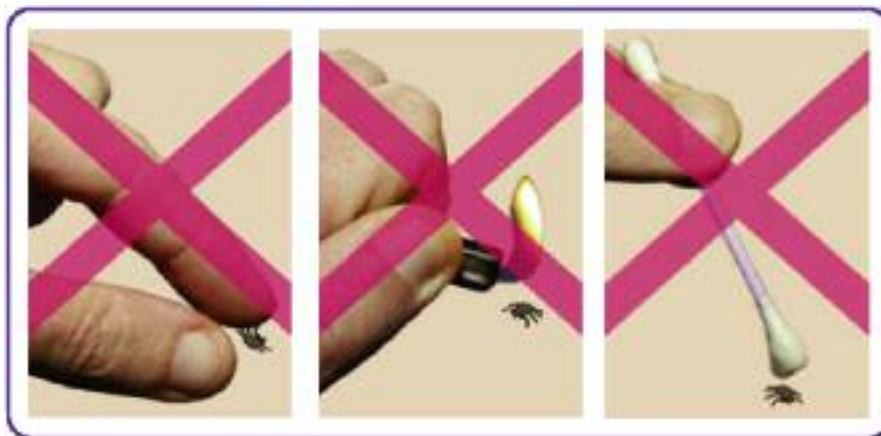
Misure generali di prevenzione

Si consiglia di fare uso di adeguato abbigliamento coprente (colore chiaro, chiuso ai polsi e caviglie, cappello a larghe tese); percorrere sentieri ben battuti, evitare il contatto con erba (es.: sedersi o sdraiarsi direttamente sui prati), le zone ricche di cespugli e sottobosco, le zone incolte; evitare i luoghi visibilmente frequentati da

animali e il contatto con animali domestici randagi e con animali selvatici; trattare gli animali domestici ed i loro giacigli con antiparassitari; applicare repellenti prima delle uscite in zone a rischio (sulla cute e sugli abiti) tenendo conto del lavaggio con il sudore e che tuttavia proteggono solo per poche ore. In caso di permanenza della zecca sulla cute, la zecca deve essere rimossa il più presto possibile evitando di toccarla con le mani (Fig. 4), ma con apposita attrezzatura (pinzette).

Gli sforzi per eradicare la malattia sono volti principalmente a eliminare la popolazione di zecche, ma essendo queste presenti su un gran numero di animali che è difficile controllare, l'unico efficace metodo di prevenzione è la vaccinazione.


Figura 4 Cosa non fare per rimuovere la zecca





Bibliografia essenziale

1. Bogovic P., Strle F.: *Tick-borne encephalitis: A review of epidemiology, clinical characteristics, and management*. World J Clin Cases. 2015; 3: 430-441.
2. Kunze U.: *Tick-borne encephalitis - a notifiable disease, a review after one year: report of the 16th Annual Meeting of the International Scientific Working Group on Tick-Borne Encephalitis (ISW-TBE)*. Ticks Tick Borne Dis. 2014; 5: 453-456.
3. Remoli M.E., Marchi A., Fortuna C., Benedetti E., Minelli G., Fiorentini C., et al.: *Anti-tick-borne encephalitis (TBE) virus neutralizing antibodies dynamics in natural infections versus vaccination*. Pathog Dis. 2015; 73: 1-3.
4. Šmit R., Postma M.J.: *Review of tick-borne encephalitis and vaccines: clinical and economical aspects*. Expert Rev Vaccines. 2015; 14: 737-747.
5. Wittermann C., Izu A., Petri E., Gniel D., Fragapane E.: *Five year follow-up after primary vaccination against tick-borne encephalitis in children*. Vaccine 2015; 33: 1824-1829.



L'IMPATTO DEI VACCINI PNEUMOCOCCICI CONIUGATI A 10 E 13 COMPONENTI SULLA EPIDEMIOLOGIA DELLE INFEZIONI PNEUMOCOCCICHE INVASIVE DOVUTE AL SIEROTIPO 19A

Nicola Principi, Susanna Esposito

Unità Operativa ad Alta Intensità di Cura

Università degli Studi di Milano, Fondazione IRCCS Ca' Granda, Ospedale Maggiore Policlinico, Milano

L'inserimento nel calendario vaccinale dei soggetti di età pediatrica del vaccino pneumococcico eptavalente coniugato (PCV7) ha portato in pochi anni ad una significativa riduzione dell'incidenza di tutte le malattie sostenute da *Streptococcus pneumoniae*, sia nei bambini vaccinati, sia nella popolazione adulta ed anziana non vaccinata (1). Con il tempo, tuttavia, la numerosità dei casi di patologia pneumococcica dovuta a sierotipi non contenuti in PCV7 è andato progressivamente aumentando, con massimo rilievo per le forme legate al sierotipo 19A, una delle più frequenti cause di malattia e spesso altamente resistente agli antibiotici di più largo uso (2). Per far fronte a questo problema e a quello relativo alla emergenza di altri sierotipi che, pur con minor peso del 19A, sfuggivano alla copertura offerta da PCV7, sono stati sviluppati e commercializzati due nuovi preparati, uno a 10 (PCV10) e uno a 13 (PCV13) componenti. Entrambi sono in uso in moltissimi paesi da circa 5 anni, un tempo sufficientemente lungo per poterne verificare la effettiva validità sul campo. Scopo di questa nota è di discutere, sulla base dei dati disponibili, se e come PCV10 e PCV13 hanno permesso

di superare i problemi posti dall'emergenza del sierotipo 19A.

Lo sviluppo di PCV10 e PCV13

Lo sviluppo di PCV13 è stato realizzato dalla stessa casa farmaceutica che aveva inizialmente registrato e prodotto PCV7. Il nuovo vaccino è stato formulato aggiungendo sei nuovi sierotipi al vecchio preparato, includendo tra questi anche il polisaccaride capsulare di 19A coniugato con la stessa proteina di trasporto utilizzata in passato per tutti i sierotipi contenuti in PCV7. Questa scelta è stata dettata dalla considerazione che il sierotipo 19F, incluso in PCV7 e inizialmente ritenuto capace di indurre la produzione di anticorpi cross-reattivi con 19A e, quindi, utili a proteggere il soggetto vaccinato anche da questo sierotipo, si era rivelato inadatto allo scopo. Nessuna o minima cross-protezione era stata dimostrata, così che i soggetti trattati con PCV7 erano protetti da 19F ma non da 19A (3). L'inclusione nel nuovo vaccino del polisaccaride capsulare di 19A poteva risolvere il problema vista la costante ottima risposta immunitaria specifica dimostrata per tutti i sierotipi in

precedenza utilizzata per la formulazione di PCV7. La correttezza di questa impostazione è stata, d'altra parte, bene dimostrata dagli studi di immunogenicità di PCV13 attuati prima della commercializzazione del nuovo prodotto.

Questi hanno chiaramente messo in evidenza che gli anticorpi prodotti da PCV13 erano, per tutti i sierotipi inclusi, compreso 19A, capaci di garantire una adeguata protezione, sia perché presenti in elevate concentrazioni, superiori in oltre il 90% dei casi al cosiddetto correlato di protezione, sia perché dotati di buona attività, come dimostrato dalla ottima capacità opsonofagocitica del siero (OPA) dei soggetti vaccinati, eguale o più elevata del minimo protettivo nel 100% dei casi sia dopo il ciclo primario, sia dopo la dose di richiamo (3).

Inoltre, PCV13 si è dimostrato capace di ridurre in modo significativo la colonizzazione rinofaringea con il sierotipo 19A (4). Poiché lo stato di portatore è considerato un prerequisito per lo sviluppo di IPD e delle malattie pneumococche non invasive, è ovvio che questo riscontro è stato considerato un elemento molto positivo sul possibile ruolo protettivo offerto da PCV13 nei confronti delle infe-



zioni sostenute dal sierotipo 19A. PCV10 è nato, invece su altre basi. In questo vaccino il sierotipo 19A non è stato incluso perché si è ritenuto che, contrariamente a quanto avvenuto per PCV7, la sola presenza del polisaccaride capsulare coniugato del sierotipo 19F fosse sufficiente ad indurre la produzione di anticorpi altamente cross-reattivi con il sierotipo 19A e, quindi, utili a eliminare anche questo sierotipo. Per giustificare questo atteggiamento, si è avanzata l'ipotesi che il processo di coniugazione di 19F con la proteina di trasposto, attuato con modalità diverse da quella utilizzata per la preparazione di PCV7, consentisse una perfetta conservazione delle caratteristiche strutturali del polisaccaride capsulare di questo sierotipo, cosa che non avveniva per PCV7 nel quale le modalità di coniugazione avevano seguito un procedimento diverso. Ciò avrebbe permesso di ottenere la produzione da parte del sistema immune

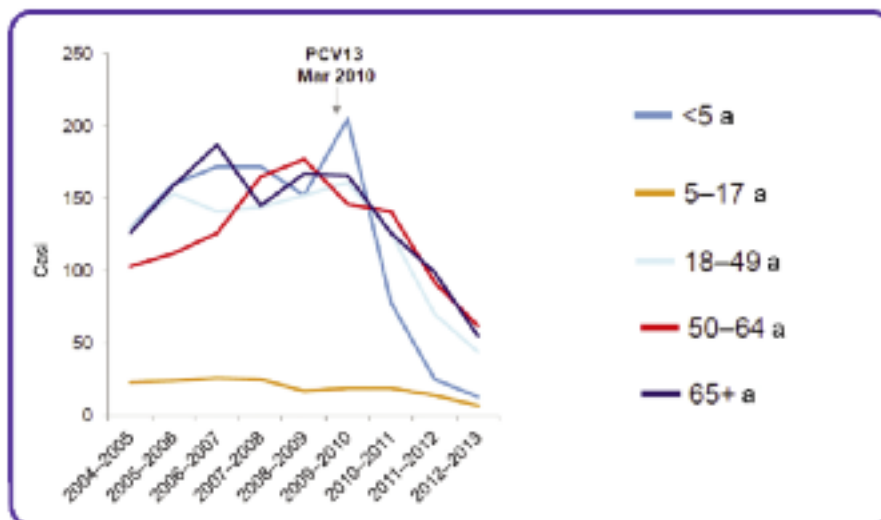
di anticorpi effettivamente cross-reattivi con il sierotipo 19A il cui polisaccaride capsulare era molto simile a quello di 19F (5). Gli studi che hanno confrontato la risposta immune di PCV7 e PCV10 hanno chiaramente dimostrato la differente capacità di produzione di anticorpi cross-reattivi con 19A da parte dei due diversi 19F perché solo quelli derivanti dal 19F presente in PCV 10 erano in grado di inibire efficacemente i batteri di sierotipo 19A in una parte rilevante di casi (6, 7). Ciò non poteva, tuttavia, significare che la capacità di PCV10 di proteggere dalle infezioni dovute al sierotipo 19A fossero, sulla base dei dati di immunogenicità, eguali a quella dovuta a PCV13 perché sia le concentrazioni di anticorpi specifici, sia l'OPA del siero contro il 19A si erano rivelate assai più spesso protettive nei soggetti che avevano ricevuto PCV13 che non in quelli vaccinati con PCV10 (Fig. 1).

Inoltre, gli studi relativi all'impatto di PCV10 sullo stato di portatore di 19A hanno dato risultati deludenti, assai inferiori a quelli ottenuti con PCV13 (8). Mancando, tuttavia, comparazioni dirette tra i due vaccini, la risoluzione del problema dell'impatto che ciascuno di essi poteva avere sul sierotipo 19A è stato lasciato alla sperimentazione clinica sul campo e alle rilevazioni epidemiologiche successive all'introduzione dei due preparati nei vari paesi.

L'epidemiologia delle infezioni da sierotipo 19A successivamente all'introduzione di PCV10 e PCV13

Gli studi più recenti sulla epidemiologia delle IPD dopo l'introduzione di PCV13 hanno tutti dimostrato che questo vaccino aveva permesso di ridurre in modo estremamente significativo le infezioni dovute al sierotipo 19A nei soggetti vaccinati e in quelli non vaccinati, sia quando il vaccino era stato somministrato con lo schema a 4 dosi (3 nel primo semestre e un richiamo all'anno, 3 + 1), sia quando era stato utilizzato lo schema semplificato a 3 dosi (2 nel primo semestre ed un richiamo all'anno, 2 + 1), come avviene in molti paesi europei, Italia compresa. Uno degli esempi più validi relativi all'utilizzo dello schema 3 + 1 è offerto dai dati relativi agli USA (9) dove il confronto tra la frequenza di diagnosi di IPD prima e tre anni dopo l'introduzione di PCV13 ha rivelato che questa si era ridotta, nei bambini di età < 5 anni, del 64% e che quella causata dai 6 sierotipi aggiunti a PCV7 del

Figura 1 Casi di IPD da sierotipo 19A negli USA nelle diverse età prima e dopo l'introduzione di PCV13 (da 9)



93%. A quest'ultimo dato aveva contribuito in modo fondamentale la diminuzione dei casi dovuti al sierotipo 19A, diagnosticati in 205 bambini nel periodo 2009-2010, quando PCV13 non era disponibile, e discesi a 78 nel 2010-2011, 25 nel 2011-2012 e 13 nel 2012-2013 (Fig. 2). Inoltre, per effetto dell'immunità di gregge, la somministrazione di PCV13 ai bambini ha condotto anche ad una rilevante caduta delle IPD da 19A anche nei non vaccinati di tutte le età, con

massima evidenza nei soggetti di età > 65 anni nei quali il numero dei casi diagnosticati nel 2012-2013 è stato circa un terzo di quelli rilevati nel 2009-2010 (55 contro 166). Dati assai simili sono stati raccolti in Inghilterra e nel Galles dove PCV13 è stato utilizzato con lo schema di somministrazione 2 + 1 (10). In questo caso si è confrontato il rapporto tra l'incidenza delle IPD per 100.000 soggetti delle diverse età nel 2013-2014, circa 3 anni dopo l'introduzione

del vaccino, con quanto rilevato nel periodo precedente (IRR) e si è ancora una volta dimostrato che il vaccino aveva rilevanti effetti positivi sia diretti, sia indiretti. Per le IPD dovute al sierotipo 19A l'IRR è stato di 0.09 ($p < 0.0001$) per i bambini di età < 5 anni, di 0.46 ($p < 0.0001$) per i soggetti di età compresa tra 5 e 64 anni e di 0.35 ($p < 0.0001$) per quelli di età superiore. Risultati sostanzialmente sovrapponibili sono stati rilevati in Francia (11), Spagna (12), Danimarca (13) e Norvegia (14) (Tab. I) con ampia conferma del positivo impatto di PCV13 che ha ampliato quanto in precedenza ottenuto da PCV7, rafforzando l'effetto sui sierotipi già inclusi nel vecchio vaccino e aggiungendo la significativa riduzione della patologia dovuta ai sei sierotipi addizionali, con particolare riguardo proprio a quella secondaria alla infezione da 19A. Assai meno uniformi sono i dati raccolti per PCV10. Accanto a studi che sembrano indicare una eccellente efficacia protettiva nei confronti di 19A, ve ne sono altri che sono meno favorevoli. I dati migliori sono quelli raccolti in Brasile dove si è usato lo schema 3 + 1 e dove si è potuto dimostrare da Marzo 2010 a Dicembre 2012 una riduzione delle IPD totali dell'83,8%, di quelle dovute ai sierotipi inclusi nel vaccino del 77,9% e di quelle da 19A dell'82,2% (15). I dati raccolti riguardano, però, solo bambini e non vi è accenno a possibili effetti indiretti di PCV10. Positivi, ma anche in questo caso limitatamente a bambini, sono i risultati delle rilevazioni effettuate in Quebec (16), Ecuador, Cile e Colombia (17).

Figura 2 Casi di IPD diagnosticati negli USA nei bambini di età ≤ 5 anni dal 2004-2005 al 2012-2013 (da 9)

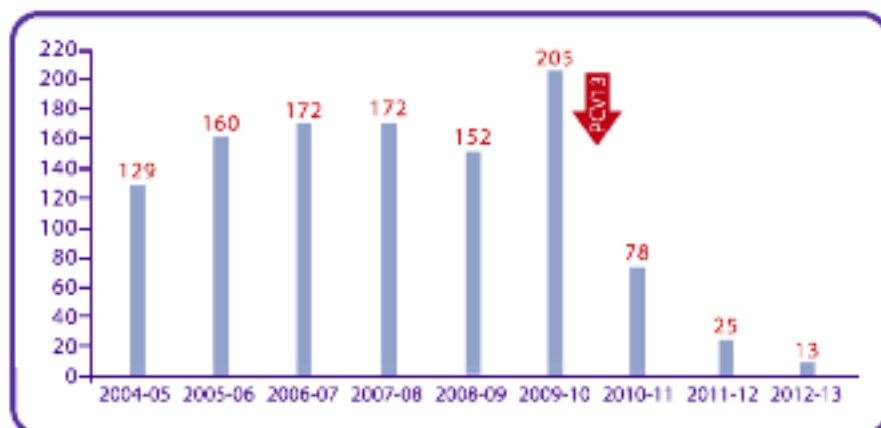


Tabella I Variazioni nella epidemiologia della IPD da sierotipo 19A in alcuni paesi ad elevata copertura vaccinale con PCV13

PAESE	ETÀ	RIDUZIONE	EVOLUZIONE	PERIODO
Norvegia	<5 anni	↓ 100%	Da 7 a 0 casi	2010 vs 2012
Danimarca	<2 anni	↓ 100%	Da 3.8 a 0 (incidenza)	2008-10 vs 2011-15
Spagna (Madrid)	<15 anni	↓ 95%	Da 3.8 a 0.2 (incidenza)	2007-10 vs 2012-13
Israele	<5 anni	↓ 68%	Da 5.0 a 1.6 (incidenza)	2010-11 vs 2012-13
USA	<5 anni	↓ 85%	Numero di casi	2007-09 vs 2012-13
France	<2 anni	↓ 83%	Incidenza	2008-09 vs 2012



In Finlandia, dove PCV10 è stato somministrato dal 2010 con lo schema 2 + 1, il confronto tra i casi di IPD diagnosticati nei bambini ≤ 5 anni nel periodo 2010-2013 e quelli registrati prima dell'introduzione del vaccino ha dimostrato una riduzione del 62%. Tuttavia, quando l'analisi è stata effettuata considerando l'incidenza della patologia da 19A anno per anno, si è visto che il numero di casi registrato nell'ultimo anno di studio, il 2013, era sostanzialmente sovrapponibile a quello diagnosticato prima dell'introduzione di PCV10 (18). Inoltre, quando la valutazione è stata estesa a considerare tutta la popolazione in modo da valutare non solo l'effetto diretto del vaccino ma anche quello indiretto, si è visto che il numero totale di casi è andato progressivamente aumentando, specie nei pazienti anziani, con evidente dimostrazione della mancanza di un effetto di immunità di gregge (19) (Fig. 3). Infine in Nuova Zelanda, dove

PCV10 è stato introdotto nell'Ottobre 2011, una rilevazione effettuata nel Giugno 2014 che ha confrontato l'incidenza di IPD nei 2 anni precedenti rispetto al periodo in cui PCV10 non era in uso ha dimostrato che il vaccino aveva significativamente ridotto le forme sostenute dai sierotipi contenuti in PCV7 evidenziando però l'emergenza dei sierotipi non contenuti in questo vaccino tra i quali proprio 19A e 7F erano le più frequenti cause di IPD (20). Specificatamente per 19A, i dati indicano che negli anni successivi all'introduzione di PCV10 il numero di casi di IPD dovuti a questo sierotipo erano aumentati rispetto al periodo precedente. L'aumento era principalmente dovuto ai casi diagnosticati nei bambini di 2-4 anni e nei soggetti di età > 5 anni, adulti inclusi (Fig. 4).

Tutto ciò ha avuto immediate ripercussioni perché le autorità sanitarie di quel paese hanno deciso, nel Luglio 2014, di sostituire

PCV10 con PCV13 nei programmi vaccinali dell'età pediatrica. D'altra parte, la mancanza di un consistente effetto di immunità di gregge si è evidenziato anche in Olanda ove la numerosità dei casi di IPD che ha globalmente coinvolto la popolazione di quel paese è andato aumentando dopo l'introduzione di PCV10 (21) (Fig. 5).

Conclusioni

Gli studi disponibili sembrano chiaramente indicare che PCV13 risponde in modo ottimale alle esigenze di controllo della patologia da sierotipo 19A. Nessuno degli studi solleva perplessità e dubbi. Diverso è il discorso per PCV10 per il quale esistono dati discordanti che creano qualche dubbio sulla effettiva capacità del vaccino di far fronte in modo sempre rilevante al problema posto dal sierotipo 19A e che giustificano i comportamenti di alcune autorità sanitarie, come quelle della Nuova Zelanda, che hanno preferito cambiare modalità di prevenzione della patologia pneumococcica, sostituendo PCV10, inizialmente introdotto nel calendario vaccinale nazionale, con PCV13. Differenze di efficacia tra i due vaccini potevano essere previste sulla base dei dati di immunogenicità nei confronti del sierotipo 19A che, come sopra ricordato, assicurano una teorica copertura del 100% per PCV13 e valori inferiori per PCV10. Recentemente è stato dimostrato che concentrazioni anticorpali anti 19A $\geq 1\mu\text{g/mL}$ sono sufficienti ad impedire la IPD da 19A (22).

Figura 3 Casi di IPD dovuti al sierotipo 19A in Finlandia nelle diverse età prima e dopo l'introduzione di PCV10 (da 19)

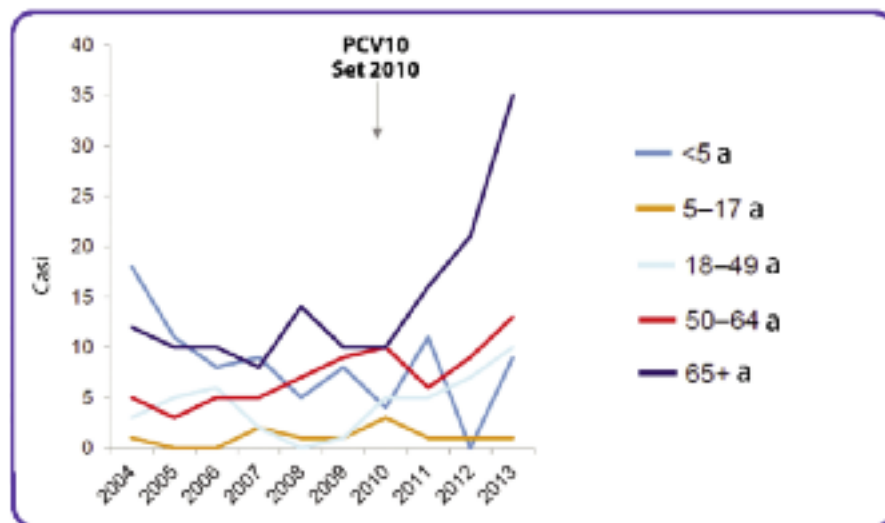


Figura 4 Epidemiologia della IPD da sierotipo 19A in Nuova Zelanda (da 19)

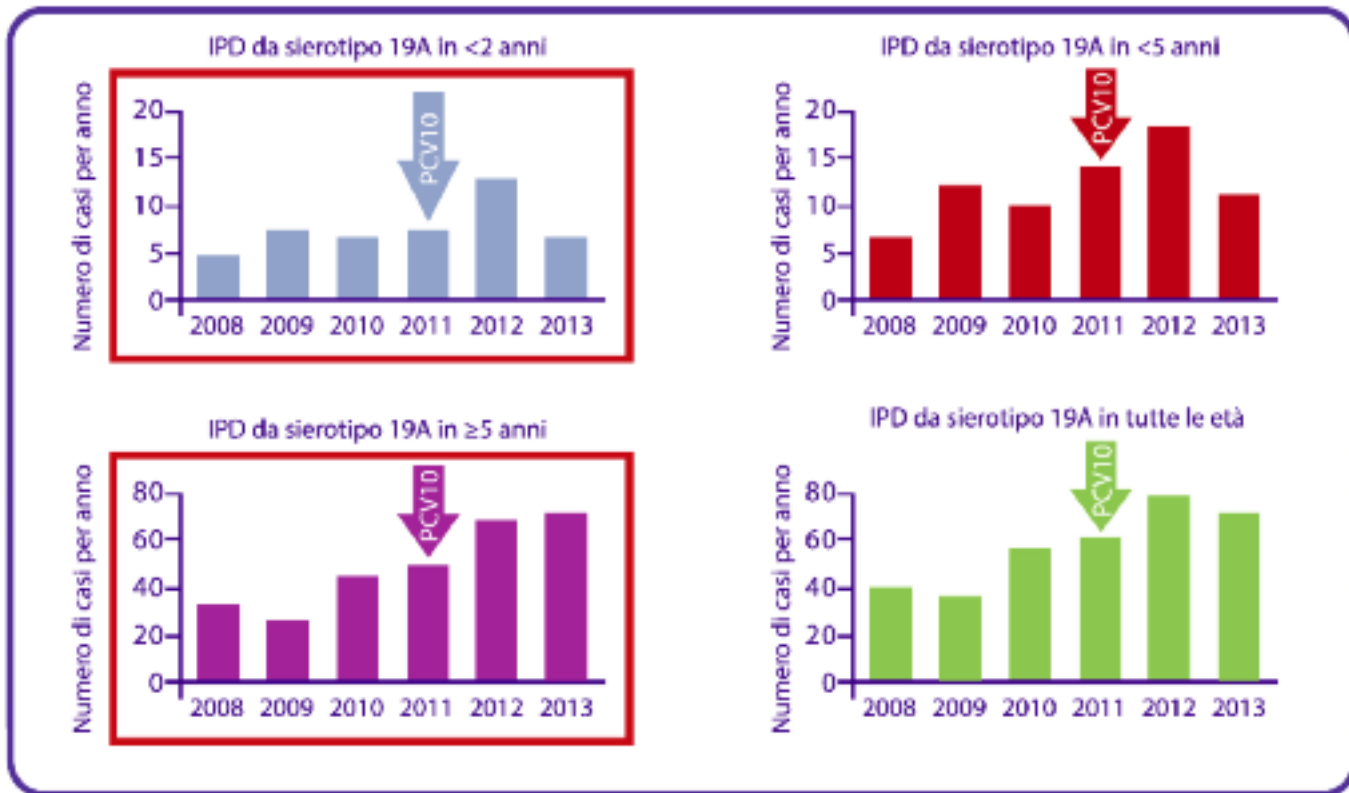
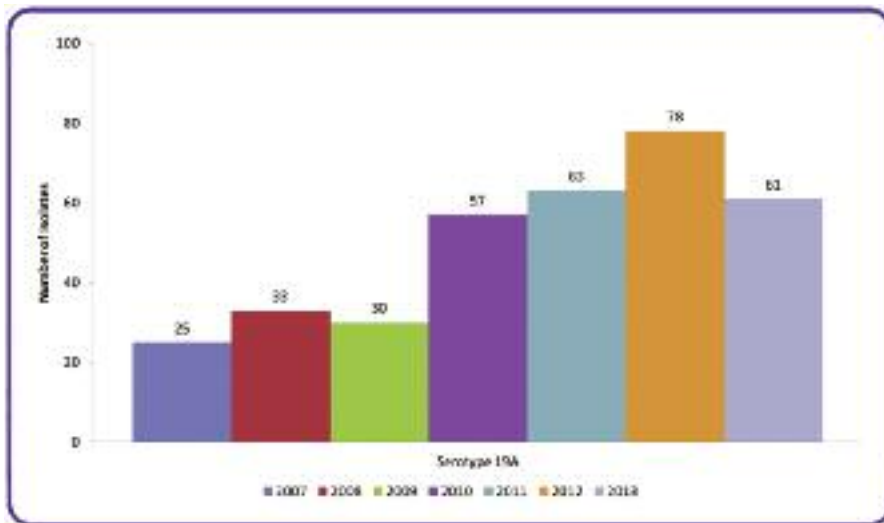


Figura 5 Numero totale di casi di IPD da sierotipo 19A diagnosticati in Olanda prima e dopo l'introduzione di PCV10 (2010) (da 20)



Questo valore è dimostrabile nella stragrande maggioranza dei bambini che ricevono 19A e solo in una parte decisamente minore di quelli vaccinati con PCV10. Lo stesso vale per il raggiungimento di titoli OPA $\geq 1:8$, quelli minimi necessari per la protezione. Inoltre, la evidenza che PCV13 aveva un impatto significativo sul portatore al contrario di PCV10 suggeriva che il secondo preparato, oltre ad essere meno efficace nel bambino vaccinato avrebbe potuto indurre una limitata immunità di gregge e, quindi, avere uno scarso impatto sull'incidenza dell'IPD nell'adulto e nell'anziano non vaccinati. I dati clinici disponibili sembrano confermare queste sup-



posizioni teoriche perché se PCV10 appare efficace nella massima parte degli studi nel limitare la frequenza di comparsa di IPD nel vaccinato, il suo impatto nell'adulto e nell'anziano, ove studiato, appare poco significativo o del tutto inesistente, probabilmente come conseguenza della ridotta risposta immune indotta. È noto, infatti, che per prevenire lo stato di portatore occorrono concentrazioni anticorpali più elevate di quelle necessarie a far fronte alla IPD. È, quindi, possibile che la risposta immune contro 19A, pur inferiore rispetto a quella indotta da PCV13, possa essere in una parte dei casi sufficiente a far fronte alla IPD del bambino vaccinato ma quasi sempre non basti ad impedire la colonizzazione. D'altra parte, se questo è vero, è anche vero che PCV10 potrebbe risultare meno efficace di PCV13 a prevenire polmonite ed otite media acuta, patologie che richiedono per la prevenzione livelli anticorpali superiori a quelli richiesti per prevenire la IPD, anche se inferiori a quelli necessari ad evitare la colonizzazione. Ulteriori studi sono necessari per chiarire questi punti. Per il momento, possiamo concludere che PCV13 sembra aver pressoché risolto i problemi posti dal sierotipo 19A mentre PCV10 non sembra del tutto convincente, specie per ciò che riguarda la prevenzione delle condizioni, come colonizzazione, otite media acuta e polmonite che richiedono elevate risposte nella produzione di anticorpi con elevata funzionalità. Inoltre, tutta da dimostrare è la protezione, per immunità di gregge, dei soggetti non vaccinati.

Bibliografia

1. Conklin L., Loo J.D., Kirk J., et al.: *Systematic review of the effect of pneumococcal conjugate vaccine dosing schedules on vaccine-type invasive pneumococcal disease among young children*. *Pediatr Infect Dis J* 2014; 33 Suppl 2: S109-S118.
2. Navarro Torné A., Dias J.G., Quinten C., et al.: *European enhanced surveillance of invasive pneumococcal disease in 2010: data from 26 European countries in the post-heptavalent conjugate vaccine era*. *Vaccine* 2014; 32: 3644-3650.
3. Kieninger D.M., Kueper K., Steul K., Juergens C., Ahlers N., Baker S.: *Safety, tolerability, and immunologic noninferiority of a 13-valent pneumococcal conjugate vaccine compared to a 7-valent pneumococcal conjugate vaccine given with routine pediatric vaccinations in Germany*. *Vaccine* 2010; 28: 4192-4203.
4. Dagan R., Patterson S., Juergens C., et al.: *Comparative immunogenicity and efficacy of 13-valent and 7-valent pneumococcal conjugate vaccines in reducing nasopharyngeal colonization: a randomized double-blind trial*. *Clin Infect Dis* 2013; 57: 952-962.
5. Poolman J., Frasch C., Nurkka A., Käyhty H., Biemans R., Schuerman L.: *Impact of the conjugation method on the immunogenicity of Streptococcus pneumoniae 19F polysaccharide in conjugate vaccines*. *Clin Vaccine Immunol* 2011; 18: 327-336.
6. Vesikari T., Wysocki J., Chevalier B., et al.: *Immunogenicity of the 10-valent pneumococcal non-typeable Haemophilus influenzae protein D conjugate vaccine (PHiD-CV) compared to the licensed 7vCRM vaccine*. *Pediatr Infect Dis J* 2009; 28 (4 Suppl.): S66-S76.
7. van den Bergh M.R., Spijkerman J., François N., et al.: *Immunogenicity, safety, and reactogenicity of the 10-valent pneumococcal nontypeable Haemophilus influenzae protein D conjugate vaccine and DTPa-IPV-Hib when coadministered as a 3-dose primary vaccination schedule in The Netherlands: a randomized controlled trial*. *Pediatr Infect Dis J* 2011; 30: e170-e178.
8. van den Bergh M.R., Spijkerman J., Swinnen K.M., et al.: *Effects of the 10-valent pneumococcal nontypeable Haemophilus influenzae protein D-conjugate vaccine on nasopharyngeal bacterial colonization in young children: a randomized controlled trial*. *Clin Infect Dis* 2013; 56: e30-e39.
9. Moore M.R., Link-Gelles R., Schaffner W., et al.: *Effect of use of 13-valent pneumococcal conjugate vaccine in children on invasive pneumococcal disease in children and adults in the USA: analysis of multisite, population-based surveillance*. *Lancet Infect Dis* 2015; 15: 301-309.
10. Waight P.A., Andrews N.J., Ladhani S.N., Sheppard C.L., Slack M.P., Miller E.: *Effect of the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine on invasive pneumococcal disease in England and Wales 4 years after its introduction: an observational cohort study*. *Lancet Infect Dis* 2015; 15: 535-543.
11. Lepoutre A., Varon E., Georges S., et al.: *Impact of the pneumococcal conjugate vaccines on invasive pneumococcal disease in France, 2001-2012*. *Vaccine*. 2015; 33: 359-366.
12. Picazo J., Ruiz-Contreras J., Casado-Flores J., et al.: *Expansion of serotype coverage in the universal pediatric vaccination calendar: short-term effects on age- and serotype-dependent in-*

cidence of invasive pneumococcal clinical presentations in Madrid, Spain. Clin Vaccine Immunol 2013; 20: 1524-1530.

13. Harboe Z.B., Dalby T., Weinberger D.M., et al.: *Impact of 13-valent pneumococcal conjugate vaccination in invasive pneumococcal disease incidence and mortality.* Clin Infect Dis 2014; 59: 1066-1073.

14. Steens A., Bergsaker M.A., Aa-berge I.S., Rønning K., Vestrheim D.F.: *Prompt effect of replacing the 7-valent pneumococcal conjugate vaccine with the 13-valent vaccine on the epidemiology of invasive pneumococcal disease in Norway.* Vaccine 2013; 31: 6232-6238.

15. Domingues C.M., Verani J.R., Montenegro Renoiner E.I., et al.: *Effectiveness of ten-valent pneumococcal conjugate vaccine against invasive pneumococcal disease in Brazil: a matched case-control study.* Lancet Respir Med 2014; 2: 464-471.

16. Deceuninck G., De Serres G., Boulianne N., Lefebvre B., De Wals P.: *Effectiveness of three pneumo-*

coccal conjugate vaccines to prevent invasive pneumococcal disease in Quebec, Canada. Vaccine 2015; Epub Apr 15.

17. Organización Panamericana per la Salud. Informe Regional de SIREVA II, 2012. Available at: http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=category&layout=blog&id=3609&Itemid=3953. Accessed on May 11, 2015.

18. Jokinen J., Rinta-Kokko H., Siira L., Palmu A.A., Virtanen M.J., Nohynek H.: *Impact of ten-valent pneumococcal conjugate vaccination on invasive pneumococcal disease in Finnish children-a population-based study.* PLoS One 2015; 10: e0120290.

19. Finland Institute for Health and Welfare. Incidence of invasive pneumococcal disease in Finland. Available at: <http://www.thl.fi/web/thifi-en/topics/information-packages/incidence-of-invasive-pneumococcal-disease-in-finland>. Accessed on June 12, 2015.

20. Institute of Environmental

Science and Research Ltd (ESR). Invasive Pneumococcal Disease. Quarterly Report April-June 2014. Available at:

https://surv.esr.cri.nz/PDF_surveillance/IPD/2014/2014Q2_IPDReport.pdf. Accessed on May 11, 2015.

21. Netherlands Reference Laboratory for Bacterial Meningitis. Bacterial Meningitis in the Netherlands. Annual Report 2013. <https://www.amc.nl/web/Research/Overview/Departments/Medical-Microbiology/Current-research/Reference-Laboratory-for-Bacterial-Meningitis.htm?print=true> Accessed on June 5, 2015

22. Andrews N.J., Waight P.A., Burbidge P., et al.: *Serotype-specific effectiveness and correlates of protection for the 13-valent pneumococcal conjugate vaccine: a postlicensure indirect cohort study.* Lancet Infect Dis 2014; 14: 839-846.

VaccinarSi 
Informarsi sulle vaccinazioni

www.vaccinarsi.org

