



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI GENOVA

SCUOLA DI SCIENZE MEDICHE E FARMACEUTICHE
DIPARTIMENTO DI SCIENZE DELLA SALUTE

DOTTORATO DI RICERCA IN METODOLOGIE INNOVATIVE APPLICATE A
MALATTIE TRASMISSIBILI E CRONICO-DEGENERATIVE: EPIDEMIOLOGIA,
STATISTICA, PREVENZIONE, MANAGEMENT E NURSING

Curriculum: **EPIDEMIOLOGIA E PROFILASSI DI MALATTIE
PREVENIBILI CON VACCINAZIONE
XXX CICLO**

DIRETTORE: PROF. G. ICARDI

***“LA VACCINAZIONE ANTIPNEUMOCOCCICA NELL’ADULTO E
NELL’ANZIANO : VALUTAZIONE DELL’IMPATTO
EPIDEMIOLOGICO, DELL’EFFICACIA CLINICA E DEL PROFILO
DI TOLLERABILITA’ E SICUREZZA DEL PREPARATO 13-
VALENTE IN LIGURIA”***

Relatore: Chiar.mo Prof. Filippo Ansaldi

Dottorando: Dott.ssa Sabrina Delucis

ANNO ACCADEMICO 2016/2017

Sommario

PARTE GENERALE	5
INTRODUZIONE	6
CARATTERISTICHE DEL MICRORGANISMO	9
1. CLASSIFICAZIONE.....	9
2. STRUTTURA.....	10
3. GENETICA	11
4. CARATTERISTICHE ANTIGENICHE	14
5. DETERMINANTI DI PATOGENICITÀ	15
6. EZIOLOGIA E PATOGENESI	17
EPIDEMIOLOGIA DI <i>STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE</i> E DELLE	
PATOLOGIE AD ESSO ASSOCIATE.....	20
1. EPIDEMIOLOGIA GENERALE.....	20
2. EPIDEMIOLOGIA DELLE PATOLOGIE INVASIVE E NON	
INVASIVE SOSTENUTE DA <i>STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE</i>	22
Epidemiologia delle patologie invasive sostenute da <i>Streptococcus</i>	
<i>pneumoniae</i>	22
Epidemiologia delle patologie non invasive sostenute da <i>Streptococcus</i>	
<i>pneumoniae</i>	26
I VACCINI CONTRO <i>STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE</i>	28
1. STORIA DEI VACCINI ANTI-PNEUMOCOCCICI.....	28

2. IL VACCINO PNEUMOCOCCICO POLISACCARIDICO 23- VALENTE (PPV23)	35
3. IL VACCINO PNEUMOCOCCICO CONIUGATO 7-VALENTE (PCV7)	39
4. IMPATTO DELL'UTILIZZO DEL VACCINO PNEUMOCOCCICO CONIUGATO 7- VALENTE (PCV7)	40
L'impatto sulle patologie invasive e non invasive sostenute da Streptococcus pneumoniae	40
Replacement sierotipico.....	44
5. I NUOVI VACCINI PNEUMOCOCCICI CONIUGATI A SPETTRO ANTIGENICO ALLARGATO	47
I principali risultati delle sperimentazioni cliniche condotte con il vaccino pneumococcico coniugato 13-valente.....	48
Risultati dei principali studi clinici condotti con vaccini pneumococcici coniugati in soggetti adulti	50
6. INDICAZIONI PER LA VACCINAZIONE PNEUMOCOCCICA NEGLI ADULTI IN ITALIA	53
PARTE SPERIMENTALE.....	55
BACKGROUND	56
OBIETTIVI DELL'ATTIVITA' DI RICERCA.....	59
MATERIALI E METODI	60

Analisi epidemiologica dell’impatto delle infezioni del basso tratto respiratorio (Low Respiratory Tract Infection – LRTI) nell’adulto	60
Valutazione dell’impatto della campagna vaccinale con PCV13 nell’adulto di età ≥ 70 anni	62
Valutazione on-field del profilo di tollerabilità e sicurezza di PCV13.....	63
Valutazione dell’efficacia di PCV13 nelle coorti vaccinate tra gli adulti di età ≥ 65 anni in termini di riduzione dell’incidenza di accessi al Pronto Soccorso (PS) per pCAP e VT-CAP.....	64
RISULTATI	68
Analisi epidemiologica dell’impatto delle infezioni del basso tratto respiratorio (Low Respiratory Tract Infection – LRTI) nell’adulto	68
Valutazione dell’impatto della campagna vaccinale con PCV13 nell’adulto di età ≥ 70 anni	70
Valutazione on-field del profilo di tollerabilità e sicurezza di PCV13	71
Valutazione dell’efficacia di PCV13 nelle coorti vaccinate tra gli adulti di età ≥ 65 anni in termini di riduzione dell’incidenza di accessi al Pronto Soccorso (PS) per pCAP e VT-CAP.....	72
DISCUSSIONE E CONCLUSIONI	75
BIBLIOGRAFIA	81

Parte Generale

INTRODUZIONE

Le malattie da Pneumococco invasive e non-invasive, incluse le infezioni del tratto delle basse vie respiratorie, in particolare le Polmoniti Acquisite in Comunità (CAP), hanno un rilevante impatto clinico ed economico in termini di Sanità Pubblica, essendo una delle principali cause di morte e di ospedalizzazione in tutto il mondo [1-2]. In particolare lo *Streptococcus pneumoniae* (Sp) rappresenta la frazione eziologica più importante di CAP, otite media acuta, sinusite ed è causa di significativa morbosità e mortalità nei bambini e negli anziani [3]. Da un punto di vista epidemiologico, l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS), nel più recente Position Paper relativo alla vaccinazione antipneumococcica in età pediatrica, stimava che Sp fosse annualmente responsabile di circa 1,6 milioni di morti, di cui circa 0,7 – 1 milione in bambini di età inferiore ai cinque anni [1]. Inoltre, in Europa e negli Stati Uniti, Sp rappresenta il principale agente etiologico di polmoniti acquisite in comunità (Community-acquired pneumonia – CAP) negli adulti [1].

Inoltre, anche se non è semplice quantificare precisamente la loro reale entità, Sp e le sue manifestazioni cliniche rappresentano un elevato costo sociale ed economico per i sistemi sanitari. La patologia pneumococcica, nei primi cinque anni di vita dei bambini, impegna buona parte dell'attività pediatrica, sia ospedaliera (soprattutto le meningiti, le batteriemie e gran parte delle polmoniti) che comunitaria (il resto delle polmoniti, e la quasi totalità delle otiti medie e delle sinusiti).

La rilevante morbosità e letalità di Sp, i costi economici diretti e indiretti a esso associati, e la crescente incidenza di ceppi antibiotico-resistenti, ha contribuito a riconoscere l'immunizzazione attiva nei confronti di questo patogeno come un fondamentale strumento di Sanità Pubblica [2,3].

In quest'ambito, la più rilevante innovazione tecnologica in ambito vaccinale è rappresentata dall'introduzione, a cavallo degli anni 2000, del vaccino pneumococcico coniugato 7-valente (PCV7) nella pratica clinica. L'utilizzo di tale preparato vaccinale nell'ambito di programmi di Sanità Pubblica ha determinato una marcata riduzione dell'incidenza delle malattie invasive tra i bambini, target dell'intervento vaccinale, e ha contestualmente determinato benefici più ampi per la salute dell'intera comunità, legati alla diminuzione dell'incidenza di patologia invasiva pneumococcica anche nei neonati non immunizzati, nei bambini più grandi e negli adulti, grazie ad un effetto indiretto noto come herd immunity o immunità di "gregge". Inoltre, l'introduzione di PCV7 ha determinato una diminuzione di patologie non invasive, quali le polmoniti non batteriemiche acquisite in comunità e le otiti medie acute sostenute dai sierotipi di Sp contenuti nel vaccino, oltre che una riduzione della circolazione e delle infezioni da parte di ceppi resistenti agli antibiotici [1].

Nonostante, il rilevante impatto del vaccino nella riduzione dell'incidenza delle patologie invasive e non invasive, la concomitante riduzione della presenza dei sierotipi vaccinali nei portatori, avvenuta in conseguenza dell'introduzione del vaccino PCV7, ha creato una nicchia ecologica per i sierotipi non vaccinali, determinando un aumento del ruolo di questi ultimi nel determinare la patologia invasiva da Sp. Tale fenomeno è denominato replacement sierotipico e ha rappresentato il razionale epidemiologico per lo sviluppo di una nuova generazione di vaccini pneumococcici a spettro antigenico allargato.

In particolare, al fine di contrastare l'impatto dei sierotipi non compresi nel PCV7, nel corso dello scorso decennio è stata studiata e resa disponibile una nuova generazione di vaccini pneumococcici a spettro antigenico allargato a cui appartengono il vaccino

pneumococcico coniugato 10-valente (PCV10) e il vaccino pneumococcico coniugato 13-valente (PCV13).

Quest'ultimo è stato approvato all'uso per la prima volta in Cile nel luglio 2009 e negli USA nel febbraio 2010. Nel corso del 2010, PCV13 è stato inoltre inserito nel calendario vaccinale dell'età pediatrica in numerosi paesi Europei e Americani, di fatto rimpiazzando l'utilizzo di PCV7.

Successivamente, nel settembre 2011 l'Agenzia Europea del Farmaco (European Medicine Agency – EMA) ha autorizzato l'utilizzo di PCV13 negli adulti di età ≥ 50 anni. Lo stesso è avvenuto negli Stati Uniti nel Dicembre 2011 quando la Food and Drug Administration (FDA) ha approvato l'uso del PCV13 nello stesso target di soggetti con l'indicazione per la prevenzione di patologie invasive da pneumococco e della polmonite acquisita in comunità causate dai sierotipi contenuti nel vaccino.

In particolare, quest'ultima indicazione, supportata dai risultati recentemente pubblicati di un imponente trial clinico, riveste grande importanza da un punto di vista di sanità pubblica sia per la notevole incidenza delle patologie del basso tratto respiratorio nei soggetti anziani sia per la sub-ottimale efficacia del vaccino pneumococcico polisaccaridico 23-valente (PPV23), precedentemente raccomandato e utilizzato nell'ambito delle strategie vaccinali di numerosi paesi.

CARATTERISTICHE DEL MICRORGANISMO

1. CLASSIFICAZIONE

Sp è un batterio Gram+ a morfologia coccoide. Storicamente appartenente alla famiglia delle Streptococcaceae, una volta abolita questa definizione, Sp è stato tassonomicamente compreso in un eterogeneo gruppo di “cocchi Gram positivi”. Il batterio, sin dai suoi primi isolamenti avvenuti nel 1880, è stato definito con varie nomenclature. La definizione diplococco (1926) è dovuta alla caratteristica divisione cellulare, nella quale la scissione binaria avviene sempre lungo lo stesso piano perpendicolare all'asse del batterio, al termine della quale gli pneumococchi sono spesso disposti a coppie (diplococchi), giustapposte con l'estremità più dilatata, o in corte catenelle. Sp è un batterio immobile, asporigeno e capsulato. Le cellule hanno forma lanceolata con diametro di 0,5-0,7µm. Come gli altri streptococchi, Sp può crescere sia in presenza sia in mancanza di ossigeno grazie alla sua capacità di utilizzare un metabolismo energetico di tipo fermentativo. Sp è un microrganismo culturalmente esigente: essendo catalasi e perossidasi negativo necessita, nel terreno di coltura, dell'aggiunta di sostanze che rappresentino una fonte di catalasi, quali i globuli rossi. In presenza di ossigeno, le colonie di Sp cresciute su agar sangue appaiono piccole e di aspetto mucoso, circondate da un alone di α -emolisi. In anaerobiosi nello stesso terreno le colonie di Sp appaiono α -emolitiche, per la produzione di pneumolisina, una citolisina ossigenolabile. Caratteristica è la conformazione a “pedina di dama” delle colonie invecchiate, la cui porzione centrale appare depressa a seguito dell'attivazione di processi autolitici [4].

2. STRUTTURA

Sp è avvolto da una capsula polisaccaridica che costituisce uno dei principali fattori di virulenza del microrganismo. La parete cellulare è costituita da diversi strati di molecole peptidoglicaniche a cui sono intercalate molecole di acido teicoico, legate ogni tre residui di acido N-Acilmuramico e ancorate alla membrana cellulare mediante una porzione lipidica. La fosforilcolina è un elemento essenziale nella struttura di Sp essendo uno dei costituenti degli acidi teicoici e lipoteicoici ed è uno dei principali determinanti della virulenza del batterio: la fosforilcolina ha un ruolo fondamentale nel processo di colonizzazione delle alte vie aeree, essendo riconosciuta da specifici recettori di membrana, presenti sulla maggior parte delle cellule umane. Un altro importante fattore di virulenza è rappresentato dai pili, presenti sulla superficie batterica e dotati di funzione adesiva. Sulla parete di Sp sono, inoltre, presenti più di 500 proteine, alcune legate alla membrana plasmatica (lipoproteine) altre direttamente associate alla parete batterica. Tra le proteine di superficie si annoverano: 5 Penicilin Binding Proteins (PBPs), 2 neuraminidasi e una IgA proteasi. Un gruppo particolare di proteine di superficie è costituito dalle Coline-Binding-Proteins (CBPs) legate covalentemente al dominio colinico della parete cellulare. Le CBPs hanno la funzione di veicolare nella parete stessa diversi elementi funzionali. La famiglia CBPs comprende diversi fattori di patogenicità quali: l'antigene protettivo PspA, le autolisine Lyt A, B e C e l'adesina CbpA [4].

3. GENETICA

Il genoma di *Sp* è disposto in un cromosoma circolare formato da 2.160.837 paia di basi (pb) associate in 2236 regioni codificanti. Una percentuale di circa il 5% del materiale genico è costituita da sequenze d'inserzione che, attraverso un meccanismo di uptake di DNA esogeno, permettono il processo di riarrangiamento. Proprio questa proprietà ha contribuito al notevole incremento della resistenza agli antibiotici negli ultimi venti anni. Questo meccanismo di ri-arrangiamento del genoma di *Sp* è permesso da un naturale sistema di trasformazione che ne facilita le variazioni. Il DNA esogeno è riconosciuto e incorporato a seguito di una serie d'eventi programmati durante lo stato di competenza batterica. I batteri competenti tendono ad aggregarsi, a formare protoplasti e subiscono alterazioni del metabolismo cellulare quali: l'aumento di ioni H^+ e Na^+ , l'incremento dell'attività glicolitica e l'aumentata sintesi d'ATP. In questa fase i batteri in crescita rilasciano il fattore CSP (competence-stimulating-peptide) che, in accordo ad un modello quorum-sensing, induce competenza dopo aver raggiunto una concentrazione critica dipendente dalla densità cellulare. Un'altra importante proprietà di *Sp* è la capacità di inserire geni provenienti da batteri della propria specie o di specie diverse nel proprio genoma. La resistenza alla penicillina, ad esempio, è dovuta al trasferimento orizzontale della sequenza PBPs codificante per penicillin-binding-proteins a bassa affinità per i β -lattamici, direttamente da *Streptococcus mitis*. Anche l'elevato tasso di crescita del microorganismo, unito all'alta densità cellulare nei siti di infezione, favorisce l'accumularsi di mutazioni spontanee nel genoma di *Sp*. La sintesi della capsula polisaccaridica di *Sp* è dipendente dal sistema biosintetico Wzx/Wzy ed avviene attraverso diverse tappe [5-8]: (i) trasferimento ad opera di una specifica glicosil-transferasi d'unità monosaccaridiche fosforilate ad un carrier lipidico associato alla membrana plasmatica, fino all'ottenimento d'unità ripetute di molecole

oligosaccaridiche; (ii) trasferimento delle unità ripetute al monolayer esterno della membrana plasmatica da parte del carrier Wzx flippase; (iii) polimerizzazione di unità ripetute e costituzione del polisaccaride capsulare da parte dell'enzima Wzy polymerase; (iv) trasferimento delle molecole polisaccaridiche alla superficie cellulare e legame con le molecole peptidoglicaniche ad opera del sistema di trasporto Wzd/Wze. Per la maggior parte dei sierotipi i geni che presiedono alla sintesi della capsula batterica sono localizzati nel locus cps compreso tra i loci dexB e aliA. Nel locus cps i geni regolatori e biosintetici sono molto conservati e definiscono il complesso cpsABCD. A partire dall'estremità 5' del locus sono disposti i geni: wzg, wzh, wzd e wze. Nella maggior parte dei casi il quinto gene del locus cps, WchA, codifica per l'enzima glucosio fosfato transferasi che dà inizio alla sintesi dei polisaccaridi capsulari. In successione s'incontrano i geni wzy e wzx, codificanti rispettivamente una polisaccaride-polimerasi e il carrier flippase, enzimi essenziali per la sintesi della capsula batterica. In direzione 3' sul locus cps s'incontrano altri geni codificanti per diversi enzimi quali: glicosil-transferasi, acetil-transferasi, nucleotide di fosfato-sintetasi ed enzimi modificanti. I primi quattro geni del locus cps e il gene non "housekeeping" codificante l'enzima glucosio fosfato transferasi presentano una bassa percentuale di residui GC. I geni wzy e wzx sono particolarmente ricchi in residui AT. In tutti gli Sp nella regione compresa tra il locus cps e i geni dexB e aliA sono presenti elementi genetici mobili e sequenze inserzionali. I geni responsabili della sintesi e della polimerizzazione delle unità oligosaccaridiche ripetute sono molto variabili e non omologhi nei diversi sierotipi. La comparsa di nuovi sierotipi può avvenire a seguito dell'introduzione di nuovi geni cps derivati da altre specie batteriche. Come detto, diversi meccanismi sono alla base della variabilità antigenica dei polisaccaridi capsulari: alcuni sierotipi sono comparsi a seguito dell'accumulo di mutazioni

puntiformi (sierogruppo 6), altri (sierogruppo 18) a seguito dell'inserzione o delezione di un singolo gene. La teoria secondo la quale questi geni deriverebbero da trasformazioni progressive avvenute nel tempo è sostenuta dalla presenza di diverse forme d'enzimi insieme al basso contenuto in residui GC delle regioni in cui sono codificati. L'elevata concentrazione di enzimi, appartenenti alla classe delle transferasi, potrebbe favorire il processo di ricombinazione genetica e la conseguente comparsa di nuovi sierotipi. Sono comunque poco frequenti gli eventi ricombinatori per il locus cps a seguito della mancanza d'omologia tra le regioni sierotipo specifiche nei diversi sierogruppi. La comparsa di nuovi sierotipi necessita il cambiamento di diversi geni del locus e i rari eventi ricombinatori spesso determinano la sintesi di capsule difettive. Le nuove unità oligosaccaridiche assemblate dalle transferasi mutate, infatti, non sono riconosciute dalle polimerasi, determinando il blocco della sintesi capsulare [5].

4. CARATTERISTICHE ANTIGENICHE

Le sostanze capsulari di Sp sono polisaccaridi complessi la cui natura chimica è stata chiarita solo per alcuni tipi. I ceppi virulenti sono dotati di capsula formata da macromolecole polisaccaridiche con proprietà antigeniche e formano la base per la classificazione degli pneumococchi in oltre 90 sierotipi (la cosiddetta Sostanza Solubile Specifica) di cui solo 15 rappresentano la causa della maggior parte delle malattie invasive. Per definire il tipo di Sp si utilizza il test di rigonfiamento (quellung test), nel quale gli anticorpi anti polisaccaridi sierotipo specifici reagiscono con il relativo antigene e (in vitro) determinano una modificazione dell'indice di rifrazione e macroscopicamente un rigonfiamento. Il polisaccaride capsulare è il principale fattore di virulenza per le sue proprietà antifagocitarie in quanto, oltre a proteggere dalla fagocitosi gioca un ruolo fondamentale nell'adesività e nella colonizzazione di diversi tessuti. La parete cellulare è formata da diverse proteine dotate di importanti proprietà antigeniche comune a tutti gli streptococchi [4]: □ l'antigene C, formato da acido teicoico, colina e galattosamina-6-fosfato ne è il maggior costituente, □ la proteina M, è un antigene proteico, ma è privo di attività antifagocitaria e la sua tipo-specificità non è correlata a quella del polisaccaride capsulare. I sierotipi capsulari hanno un pattern di distribuzione che varia con l'età e la regione geografica (sembra però che i ceppi più comuni siano identificati in tutto il mondo e che solo 10-25 ceppi siano responsabili di oltre l'80% delle forme invasive). In generale i sierotipi 6, 9, 14 e 19 sono maggiormente diffusi negli Stati Uniti, in Canada e in Europa. In Asia, Africa e America Latina s'isolano con maggior frequenza invece i sierotipi 1, 3, 5, 14. Di recente, sono stati condotti studi volti a valutare se i diversi sierotipi di Sp si associno in via preferenziale con alcune manifestazioni cliniche. In tal senso gli studi pubblicati hanno effettivamente evidenziato, per alcuni sierotipi, un tropismo per particolari sedi

tissutali. In tutte le fasce d'età, i sierotipi 1 e 14 sono stati isolati più di frequente nel sangue, mentre i sierotipi 6, 10 e 23 sono stati identificati più spesso nel fluido cefalorachidiano; nei bambini invece i sierotipi 3, 19 e 23 sono stati isolati frequentemente nel fluido proveniente dall'orecchio medio [9].

5. DETERMINANTI DI PATOGENICITÀ

I principali fattori di patogenicità di *Sp* sono rappresentati sia da fattori solubili sia da fattori legati al corpo microbico. In particolare, sembrano giocare un ruolo rilevante nella patogenicità del microrganismo: a) I pili giacché in grado di mediare l'adesione di *Sp* alle cellule epiteliali nelle vie aeree superiori durante il processo di colonizzazione. I pili sono codificati dal gene *rirA* presente in molti ceppi isolati da casi di patologie invasive. L'introduzione del gene *rirA*, in ceppi capsulati *rirA* negativi, determina la sintesi dell'apparato pilifero aumentando le capacità adesive della cellula batterica. I pili inoltre evocano la produzione di TNF durante le infezioni sistemiche aumentando la reazione infiammatoria. b) La capsula polisaccaridica giacché in grado di interferire con il processo di fagocitosi attraverso l'inibizione del processo di opsonizzazione da parte del fattore del complemento C3b. Durante l'invasione delle mucose i ceppi capsulati sono 100000 volte più virulenti rispetto ai ceppi non capsulati. c) I componenti della parete cellulare costituita da molecole che innescano potenti reazioni infiammatorie. In dettaglio, la fosforilcolina legata agli acidi teicoici e lipoteicoici favorisce l'invasione dei tessuti e agisce da adesina per le proteine CBPs. Altri patogeni respiratori quali *Haemophilus*, *Pseudomonas*, *Neisseria* e *Mycoplasma* presentano residui di fosforilcolina suggerendo l'esistenza di un comune meccanismo d'invasione del tratto respiratorio. Due recettori capaci di riconoscere e di legare la fosforilcolina sono: PAF

(platelet activating factor) e la proteina C reattiva. Il legame della fosforilcolina al recettore PAF dell'ospite sovverte la cascata di reazione che dà il via alla risposta immune innata. Anche il complesso costituito da peptidoglicano/acido teicoico è fortemente infiammatorio attivando direttamente la cascata del complemento, la chemiotassi che richiama leucociti e la cascata coagulativa. Il peptidoglicano inoltre si lega al recettore CD14 attivando la risposta infiammatoria da endotossina. Questo processo induce la produzione di interleuchina 1, 6 e TNF. d) La famiglia delle Coline Binding Proteins (CBPs) che comprende fattori quali: PspA (Protective antigen), LytA, B e C (tre autolisine) e l'adesina CbpA. Il fattore PspA è una proteina di 6kDa con dieci domini cholinebinding e inibisce l'opsonizzazione da parte dei fattori del complemento. L'autolisina LytA è responsabile della lisi delle cellule batteriche durante la fase di crescita stazionaria e in presenza di antibiotici. Questa proteina presenta due domini funzionali: il dominio C' terminale con sei unità choline-binding che ancorano la proteina alla parete cellulare, e un dominio N'terminale ad attività amidasica. L'autolisina LytB è una glucosamidasi coinvolta nella divisione cellulare, LytC presenta un'attività simile a quella del lisozima. CbpA è la maggiore adesina pneumococcica e presenta 8 domini coline-binding. Quest'adesina interagisce con gli oligosaccaridi presenti alla superficie delle cellule epiteliali polmonari. Pneumococchi mutanti privi di CbpA sono incapaci di colonizzare la rinofaringe. L'adesina CbpA sembra inoltre in grado di sequestrare le IgA secretorie e il fattore del complemento C3. e) Oltre alla presenza di fattori di virulenza legati alla parete, gli pneumococchi producono esotossine, le più importanti delle quali sono emolisine. Sono state descritte due emolisine, la più potente delle quali è nota come pneumolisina. Pneumolisina è una proteina di 53kDa che può causare lisi cellulare e induce la cascata del complemento. Pneumolisina è contenuta all'interno della cellula batterica ed è rilasciata in seguito alla

lisi cellulare. Quest'adesina si lega al colesterolo per cui è in grado di aderire a tutte le membrane cellulari senza necessità di specifici recettori. Pneumolisina tende a costituire oligomeri che formano pori sulla membrana cellulare determinando la lisi della cellula stessa. Altre azioni di questa potente adesina sono: la stimolazione di citochine infiammatorie, l'inibizione del movimento ciliare, l'inibizione della proliferazione linfocitaria, la riduzione dell'attività battericida dei neutrofilo e l'attivazione del complemento. f) Il perossido di idrogeno che agisce come una potente emolisina, causando apoptosi delle cellule ed esercitando un'attività battericida nei confronti di batteri competitori come *Staphylococcus aureus*. g) Le neuraminidasi e le IgA proteasi che sono potenti esoenzimi presenti in altri patogeni, aumentano la virulenza dello pneumococco.

6. EZIOLOGIA E PATOGENESI

Sp è l'agente etiologico di un ampio spettro di patologie invasive caratterizzate da rilevante letalità e di patologie non invasive a elevata incidenza sia nell'età pediatrica sia fra la popolazione anziana. Fra i principali quadri patologici invasivi sostenuti da Sp si riconoscono forme meningitiche, sepsi, polmoniti accompagnate da empiema e batteriemia, mentre le più frequenti malattie non invasive includono polmoniti non batteriemiche, otiti, sinusiti e bronchiti [1]. Le infezioni sostenute da Sp si manifestano solitamente in forma sporadica ma possono causare vere e proprie epidemie in collettività chiuse [4]. Sp è normalmente presente nella rinofaringe del 5-70% degli individui. L'adesione di Sp all'epitelio nasofaringeo avviene attraverso diversi meccanismi che nella maggior parte dei casi determinano l'attivazione di una specifica risposta immune. In alcuni soggetti, in presenza di cause predisponenti, quali infezioni

respiratorie da virus, inalazione di anestetici irritanti, traumi toracici, insufficienza cardiaca e, in genere, tutti i fattori in grado di favorire l'insorgenza di edema polmonare, *Sp* può raggiungere le vie respiratorie profonde provocando la polmonite di cui esso è uno dei più frequenti agenti eziologici [4]. Dalle prime vie aeree il batterio può raggiungere anche i seni dell'orecchio medio e da qui, se le difese dell'organismo non lo contrastano validamente, può diffondersi ulteriormente provocando l'insorgenza di meningiti. Dalle lesioni polmonari può inoltre migrare, una volta superata la barriera dei linfonodi mediastinici, nel dotto toracico e da qui nella circolazione generale. Dalla batteriemia può far seguito la localizzazione dell'infezione all'endocardio, al pericardio, alle meningi, al peritoneo e alle cavità articolari. Come precedentemente descritto, l'invasione e la crescita dello pneumococco nei tessuti si devono principalmente ai componenti della parete cellulare che determinano: attivazione del complemento, attivazione della coagulazione, produzione e rilascio di interleuchina 1, 2, 6 e di TNF da parte dei fagociti. Inoltre la lisi dei batteri in risposta ai meccanismi di difesa dell'ospite determina ulteriore rilascio di pneumolisina e di sostanze ad attività citotossica che alimentano il processo infiammatorio. In particolare, la produzione di perossido di idrogeno e di pneumolisina può giocare un ruolo cruciale nello sviluppo dello shock settico. Durante l'invasione, l'interazione tra i residui di colina presenti sulla parete della cellula batterica e i recettori dell'ospite contribuiscono ad alterare la permeabilità delle cellule endoteliali. Nel polmone l'aumento della permeabilità vasale determina la formazione di un essudato infiammatorio purulento a causa del continuo richiamo di leucociti nell'area di flogosi. *Sp* è in grado di invadere direttamente le cellule endoteliali attraverso un processo di fagocitosi mediata da recettori. Il ligando è costituito dalle molecole di colina presenti sulla superficie della parete batterica, il recettore è costituito dalle molecole PAF. Le CbpA si legano a recettori presenti sulla superficie delle cellule

alveolari. Nel caso in cui si verifichi batteriemia, aumenta il rischio di meningiti. Sp, infatti, può aderire all'endotelio dei vasi cerebrali. Una volta passato nel liquor, Sp attiva una violenta risposta infiammatoria a seguito del rilascio di componenti della parete cellulare.

EPIDEMIOLOGIA DI STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE E DELLE PATOLOGIE AD ESSO ASSOCIATE

1. EPIDEMIOLOGIA GENERALE

Il serbatoio naturale di Sp è rappresentato da soggetti umani sani (soprattutto bambini) che sono asintomaticamente portatori del microrganismo nella rinofaringe. I bambini possono essere colonizzati a livello della rinofaringe per 4-6 settimane da diversi sierotipi contemporaneamente. L'acquisizione di nuovi sierotipi avviene circa ogni due mesi. I sierotipi prevalenti, in epoca prevaccinale, erano 6, 14, 18, 19 e 23, riscontrati conseguentemente nel 60-80% delle infezioni.

La trasmissione di Sp si verifica prevalentemente attraverso il contatto diretto interpersonale mediato da *droplets* respiratori e attraverso l'auto-inoculazione del microrganismo in persone portatrici di Sp nella rinofaringe [10]. La diffusione del batterio all'intero del nucleo familiare o della comunità è mediata da numerosi fattori fra cui si annoverano il sovraffollamento, il periodo dell'anno e la presenza di infezioni delle alte vie respiratore che possono rappresentare un importante fattore predisponente per lo sviluppo di patologie non invasive da Sp quali polmonite non batteriemiche, otiti e bronchiti. Anche in conseguenza di quest'ultimo fattore, le infezioni da Sp risultano più frequenti durante l'inverno e nelle prime settimane primaverili [10].

Il periodo di trasmissibilità del batterio è attualmente sconosciuto, ma presumibilmente la trasmissione di Sp può perdurare per tutto il periodo in cui il batterio è presente nelle secrezioni respiratorie [10].

I soggetti maggiormente a rischio d'infezione sono i bambini compresi nella fascia d'età fra 6 mesi e 5 anni e gli adulti con un'età superiore ai 60 anni. In particolare, nella popolazione pediatrica, i bambini con asplenia anatomica o funzionale e i bambini con

infezione da HIV presentano un rischio particolarmente elevato per patologia invasiva. Anche i bambini con impianto cocleare presentano un aumentato rischio di patologia invasiva.

I bambini di età inferiore ai 5 anni che frequentano asili hanno dimostrato un rischio 2-3 volte maggiore di malattia invasiva da Sp e otite media acuta rispetto ai bambini della stessa età che non frequentano asili. L'incidenza è inoltre aumentata nei bambini di alcuni gruppi etnici anche se tale relazione non appare completamente spiegata. I principali fattori di rischio per lo sviluppo di patologia invasiva da Sp nella popolazione adulta includono:

- Riduzione della funzione immunitaria determinata da malattie concomitanti o farmaci;
- Asplenia anatomica o funzionale;
- Malattia croniche a carico di cuore, polmoni (inclusa l'asma), il fegato e il rene;
- Il fumo di sigaretta;
- La perdita di liquido cerebrospinale

2. EPIDEMIOLOGIA DELLE PATOLOGIE INVASIVE E NON INVASIVE SOSTENUTE DA STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE

Epidemiologia delle patologie invasive sostenute da Streptococcus pneumoniae

A livello globale, l'OMS ha registrato, nel 2000, 14,5 milioni di casi di malattia invasiva su scala mondiale con conseguenti 826.000 decessi in bambini di età compresa tra 1 e 59 mesi. Nei paesi ad alto reddito, la patologia invasiva si manifesta soprattutto nei bambini sotto i due anni di età e negli anziani, mentre nei paesi più poveri, la malattia è comune nei bambini sotto i 2 anni, compresi i neonati, mentre i tassi della malattia nella popolazione anziana sono in gran parte sconosciuti. L'infezione da HIV e altre malattie associate a immunodeficienza risultano aumentare notevolmente la probabilità di sviluppare malattia invasiva pneumococcica [11]. Secondo i dati pubblicati dal Center for Disease Control and Prevention (CDC) di Atlanta nel maggio 2012, l'incidenza globale della malattia invasiva da pneumococco negli Stati Uniti tra il 1998 e il 1999 è stata stimata in circa 24 casi per 100.000 persone. Tuttavia, i tassi di incidenza variano significativamente nelle diverse classi d'età. I tassi più alti erano registrati tra i bambini piccoli, specialmente quelli con meno di 2 anni d'età, tra i quali, nel 1998, si è registrato un tasso pari a 188 casi ogni 100 mila abitanti (20% di tutti i casi). L'incidenza è risultata notevolmente inferiore nelle fasce d'età successiva, risalendo a 61 casi ogni 100.000 abitanti nei soggetti ultra sessantacinquenni. Nel 2008, successivamente all'introduzione di PCV7, l'incidenza globale della malattia invasiva da pneumococco negli Stati Uniti è stata di 14,5 casi su 100.000 abitanti [12]. In Europa, nel 2012 sono stati riportati 20.785 casi confermati di patologia invasiva pneumococcica in 27 paesi, 22 dei quali gestiscono sistemi di sorveglianza con

copertura nazionale [13]. L'incidenza complessiva dei casi confermati era pertanto pari 4,28 casi per 100.000 abitanti, sovrapponibile a quella registrata nei due anni precedenti. I tassi più elevati di notifica sono stati osservati nei paesi del nord dell'Europa, fra cui Danimarca (15,81 casi per 100.000 abitanti), Svezia (14,63 casi per 100.000 abitanti), Finlandia (13,92 casi per 100.000 abitanti) e Norvegia (12,56 casi per 100.000 abitanti). Il Lussemburgo ha riportato il tasso più basso con 0,19 casi ogni 100.000 abitanti, seguito dalla Lituania (0,23), dalla Bulgaria (0,26), dalla Grecia e dalla Romania (0,39). Il numero totale di casi confermati segnalati è incrementato in modo significativo dal 2009. Quest'aumento è in gran parte conseguenza del miglioramento nel *reporting* di alcuni Paesi (Danimarca, Spagna), dell'inserimento di dati da una fonte di dati differente (Repubblica Ceca, Paesi Bassi, Danimarca), dai primi contributi di Islanda e la Francia, e dall'inclusione della malattia pneumococcica invasiva tra le malattie a segnalazione obbligatoria (Lettonia). Se si escludono questi otto Paesi, la tendenza generale europea è rimasta stabile nel periodo 2008-2012. Il tasso di notifica dei casi confermati di patologia invasiva pneumococcica è stato 5,06 per 100.000 abitanti nei bambini sotto i cinque anni (10,86 in bambini di età inferiore a un anno) e 12,12 per 100.000 abitanti negli adulti di età maggiore o uguale a 65 anni o più [13].

In tutte le fasce d'età, i 10 sierotipi isolati con maggiore frequenza sono stati 3, 7F, 19A, 1, 22F, 8, 14, 12F, 6C e 15A (ordinati per frequenza), pari al 59,2% degli isolati. Questo dato è in sostanza sovrapponibile a quello osservato nel 2011, con la differenza di un solo sierotipo tra i due anni (sierotipo 4 nel 2011 e sierotipo 15A nel 2012). I quattro sierotipi più comuni (3, 7F, 19A e 1) sono contenuti nei vaccini pneumococcici a spettro antigenico allargato. Il sierotipo 19A è stato il sierotipo più comune nei bambini sotto un anno, seguito dal sierotipo 7F. Il sierotipo 1 e il 19A sono stati i più comuni nei bambini di età compresa tra 1 e 4 anni. Il sierotipo 1 ha rappresentato il 37% di tutti i

sierotipi isolati da casi di età 5-14 anni. Tra gli adulti over sessantacinquenni, i sierotipi più frequenti sono stati il 3 e il 19A [13]. I dati sui test di suscettibilità antimicrobica sono stati presentati da 17 paesi. La prevalenza di non-sensibilità (intermedio e resistente) era più alta per l'eritromicina (15,6%), seguita dalla penicillina (6,9%). Livelli molto elevati di resistenza all'eritromicina sono stati osservati in Danimarca (56,3%) e Romania (52,2%). Tra tutti gli isolati testati contro eritromicina, penicillina e cefotaxime/ceftriaxone, il 7,3% era pienamente suscettibile a tutti e tre e lo 0,15% non era sensibile a nessuno dei tre [13]. Il sistema di sorveglianza delle malattie batteriche invasive, attivo nel nostro Paese, ha riportato per il 2013, 963 casi di malattia invasiva da pneumococco, numero superiore rispetto a quello degli anni precedenti (730 casi notificati nel 2011 e 797 casi nel 2012) [14]. L'aumento dei casi si è verificato in più della metà delle regioni; in alcune regioni l'incremento è stato più evidente: ad esempio in Campania il numero di casi è passato da 6 a 17, in Friuli Venezia Giulia da 17 a 30, in Emilia Romagna da 88 a 124, in Piemonte da 166 a 209. Solo in due regioni il numero di casi notificati nel 2013 è diminuito: Liguria (da 14 nel 2012 a 1 nel 2013) e Puglia (da 6 a 3). Persiste, come negli anni precedenti, un numero di casi segnalati relativamente basso in alcune grandi regioni (Campania, Lazio, Puglia, Sardegna, Sicilia); poiché una certa quota di malattie invasive da pneumococco dovute a infezioni da sierotipi non vaccinali è attesa in ogni regione, un numero di casi molto basso fa ipotizzare un problema di sottotifica o sottodiagnosi [14]. L'incidenza di patologia invasiva è complessivamente risultata in lieve aumento dal 2011 al 2013. Considerando il dato nazionale l'incidenza di malattia invasiva da pneumococco risulta pari a 1,61 casi per 100.000 nel 2013; se invece limitiamo il calcolo alle 7 Regioni/PA con maggiore attitudine alla notifica, l'incidenza risulta più che raddoppiata (3,75 casi per 100.000 nel 2013) [14]. Osservando l'incidenza per gruppo di età, questa è maggiore

negli anziani dopo i 64 anni di età (fascia di età nella quale si verifica anche il maggior numero di casi) e nei bambini nel primo anno di vita. Considerando i dati delle regioni selezionate, l'incidenza nel 2013 è pari a 4,70 casi per 100.000 nel primo anno di vita, 8,38 per 100.000 nei soggetti con più di 64 anni e più bassa nelle altre fasce di età [14].

Persiste, come negli anni precedenti, l'andamento in diminuzione nelle fasce di età da 0 a 5 anni; mentre si nota un aumento nelle altre fasce di età, in particolare negli adulti. Il calo nella fascia di età 0-5 anni è verosimilmente legato a una minore circolazione del patogeno per un aumento della copertura vaccinale nel bambino; l'aumento rilevato negli adulti potrebbe essere attribuito a una crescente attenzione alle sepsi dell'adulto (la patologia più frequente in questa fascia di età) a seguito della loro inclusione nel sistema di sorveglianza a partire dal 2007 e alla disponibilità di metodi diagnostici più sensibili oppure a un reale aumento della circolazione delle forme non prevenibili con la vaccinazione [14]. Relativamente al quadro clinico, la sepsi/batteriemia è il quadro clinico più frequente anche se con distribuzione diversa tra i gruppi di età; tale quadro clinico è più frequente negli ultra-sessantaquattrenni. I casi segnalati includono sia i casi non prevenibili dal vaccino, sia i casi verificatisi in soggetti non target dei programmi vaccinali; pertanto il numero complessivo delle infezioni invasive da pneumococco rimane elevato anche in regioni che nel 2012 mostravano coperture per la vaccinazione pneumococcica sopra l'85% nei bambini fino a 24 mesi, come Piemonte ed Emilia-Romagna.

Informazioni sul sierotipo sono disponibili per il 58% dei casi notificati nel 2012 e nel 2013. La quota di ceppi tipizzati è notevolmente aumentata rispetto al passato (soltanto il 27% dei casi notificati nel 2011 erano stati tipizzati) per l'invio di dati provenienti da laboratori di riferimento regionale o sovraregionale [14].

Nel 2013, il sierotipo 3 è risultato il più rappresentato tra i ceppi tipizzati (12,4%), seguito dai sierotipi 1 e 7F. Questi tre sierotipi sono presenti sia nella composizione del vaccino 13-valente che in quello 23-valente. Il 12F è invece il sierotipo più frequente (6,7%) non contenuto nel vaccino 13-valente e risulta in aumento confrontando le percentuali di frequenza dal 2011 [14]. In leggero aumento anche altri sierotipi come il 23A. Tuttavia questi aumenti in percentuale non necessariamente corrispondono a un aumento dei casi da questi sierotipi, ma riflettono anche la diminuzione della circolazione dei sierotipi vaccinali [14].

Analizzando i sierotipi isolati da pazienti con età fra 0 e 4 anni, nel 2013 si è registrata la netta diminuzione dei sierotipi 14 e del 19A. Rimane invece elevata la frequenza del sierotipo 1 che, malgrado sia contenuto nel vaccino 13-valente, continua a essere il più frequente insieme al 12F [14].

Epidemiologia delle patologie non invasive sostenute da *Streptococcus pneumoniae*

L'incidenza della polmonite pneumococcica è stimata in un *range* compreso fra 10 e 100 casi/100.000 per anno con valori generalmente compresi tra 15 e 25 casi/100.000 nell'età pediatrica [15]. In era pre-vaccinale, in Europa e in USA, il tasso di incidenza di polmonite era stimato pari a 34-40 casi/1.000 bambini al di sotto dei 5 anni e il 17%-44% dei ricoveri pediatrici per polmonite era attribuito a Sp [16]. Nei paesi ad alto reddito il numero di casi di polmoniti per anno-bambino al di sotto dei 5 anni è stimato pari a 0,05; nelle nazioni in via di sviluppo, invece, il tasso di incidenza aumenta fino allo 0,29/anno-bambino [17]. In Europa il tasso di incidenza si attesta su 0,06 casi per anno bambino [17].

Il tasso di incidenza della polmonite nella popolazione anziana viene stimato superiore a 50 casi/100.000 all'anno e si ritiene che, complessivamente, dal 13% al 34% delle

polmoniti nell'adulto siano dovute allo *S. pneumoniae* [15- 16]. L'otite media acuta è una patologia molto comune nei bambini, in particolare tra i 6 e i 12 mesi di età, epoca in cui si registra un picco d'incidenza. Entro l'anno di vita, oltre il 60% dei bambini sviluppa un'otite media in USA [18]; le ricorrenze di malattia, inoltre, sono molto comuni (pari al 50%) entro 2 anni [19]. Nel Regno Unito, circa il 25% dei bambini sviluppano un'otite media entro il decimo anno di età [20]. Uno studio di coorte americano ha stimato che i soggetti che sviluppano almeno un episodio di otite media acuta sono pari al 62% fino a 1 anno di età, all'83% fino a 3 anni e al 91% fino a 5 anni [21]. Lo *S. pneumoniae* è responsabile di una percentuale variabile dal 15% al 55% dei casi di otite media acuta [22-24]. In epoca pre-introduzione di PCV7, oltre il 70% dei casi di otite pneumococcica erano imputabili a sierotipi contenuti nel vaccino eptavalente [25].

I VACCINI CONTRO STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE

1. STORIA DEI VACCINI ANTI-PNEUMOCOCCICI

Lo sviluppo di un vaccino preventivo nei confronti di Sp è iniziato agli anni del XX Secolo. Alcune tappe fondamentali hanno preceduto questa fase [26]. In particolare, nel 1880 George M. Sternberg (1838–1915), medico dell'esercito statunitense, e Louis J. Pasteur (1822–1895) avevano per la prima volta isolato Sp. Le due scoperte sono avvenute indipendentemente a New Orleans e Parigi [26]. A distanza di pochi anni dal primo isolamento di Sp, Albert Frankel (1864–1938) dimostrò per primo lo sviluppo di un'immunità umorale successiva all'infezione da Sp nei conigli. Nel 1886 egli, infatti, constatò come i conigli che guarivano da un'infezione pneumococcica fossero immuni da successive reinfezioni [26]. Successivamente a tale scoperta, Georg Klemperer (1865–1946) e suo fratello Felix Klemperer (1866–1932) nel 1891 dimostrarono che il siero di conigli a cui erano stati iniettati il microrganismo ucciso col calore conferiva un'immunità nei confronti di re infezioni dello stesso sierotipo, ma non necessariamente nei confronti di altri sierotipi. Sulla base di questa scoperta, i due fratelli sono considerati gli scopritori della terapia sierica [26]. A partire dal 1895, il siero anti-pneumococcico fu commercializzato e rimase in vendita sino agli anni 40 del ventesimo secolo. Le prime formulazioni di questo prodotto vennero, di fatto, autorizzate su basi puramente empiriche fondate sull'analogia con l'antitossina difterica. Infatti, i primi studi sull'antisiero pneumococcico furono condotti a partire dal 1910 [26].

Negli stessi anni hanno preso inizio anche le ricerche del primo vaccino antipneumococcico formulato a cellule intere. Infatti, il 4 ottobre 1911, Sir Almroth E. Wright (1861–1947), un medico britannico, iniziò una serie di almeno tre studi clinici allo scopo di testare un vaccino anti-pneumococcico a cellule intere uccise col calore in

diverse migliaia di minatori d'oro. Ciò di cui Wright non aveva tenuto conto nella formulazione del primo vaccino anti-pneumococcico era la peculiare specificità dei diversi sierotipi di Sp [26].

D'altro canto, le prime evidenze dei differenti sierotipi di Sp avevano cominciato ad accumularsi a partire dal 1909, quando Franz Neufeld (1861–1945) e Ludwig Handel (1869–1939) svilupparono un metodo, denominato “quellung” e basato sulla capacità degli anticorpi di legarsi in maniera specifica a determinate sottoclassi della capsula del batterio, attraverso il quale distinguere i diversi sierotipi [26]. Successivamente (1916–17), Dochez e Avery isolarono per la prima volta ciò che loro denominarono “sostanza solubile specifica di pneumococco”, oggi nota come polisaccaride capsulare. Fra il 1923 e il 1929, Avery e Michael Heidelberger (1888–1991), presso il Rockefeller Institute, condussero una serie di studi sugli antigeni capsulari come base dei differenti sierotipi di Sp, mentre René J. Dubos e lo stesso Avery, nel 1931, stabilirono il ruolo cruciale della capsula pneumococcica come fattore di virulenza del microrganismo [26]. Nel 1927, Oscar Schiemann e Wolfgang Casper scoprirono, presso il Koch Institute, l'immunogenicità dei polisaccaridi capsulari di Sp. In concomitanza con questa scoperta, Thomas Francis Jr (1900–1969) e William S. Tillett (1892–1974), ricercatori presso la Harvard University e il Rockefeller Institute, iniettarono polisaccaridi pneumococcici purificati come forma di test cutaneo nelle persone che erano guarite da polmonite pneumococcica. Il loro obiettivo era identificare la presenza di anticorpi diretti contro Sp sierotipo-specifici evocati dai polisaccaridi capsulari. I due ricercatori scoprirono che gli anticorpi si sviluppavano non solo contro il polisaccaride del sierotipo responsabile dell'infezione, ma anche nei confronti dei sierotipi iniettati in precedenza [26]. Maxwell Finland (1902–1987) utilizzò questa scoperta per condurre alcuni studi volti a valutare la relazione fra la dose di polisaccaride e la risposta

immunologica [26]. Nel 1929, Avery aveva per la prima volta legato covalentemente (coniugato) i polisaccaridi capsulati a proteine allo scopo di aumentarne l'immunogenicità. Le proteine utilizzate allo scopo erano la globulina di cavallo e l'albumino dell'uovo, mentre i polisaccaridi coniugati appartenevano presumibilmente ai sierotipi 1 e 2. Questa scoperta avrebbe assunto un'importanza clinica fondamentale a distanza di alcuni decenni [26]. Lloyd D. Felton (1885–1956), lavorando negli anni 20 e 30 del ventesimo secolo prima alla Harvard Medical School e successivamente alla Johns Hopkins University, dimostrò che i polisaccaridi pneumococcici purificati erano in grado di indurre una risposta anticorpale nell'uomo. Egli sviluppò un vaccino bivalente contro i sierotipi 1 e 2 che fu testato in sperimentazioni cliniche sul campo, condotte durante gli anni '30 su circa 120.000 uomini. I risultati tuttavia furono non conclusivi, in parte perché gli studi batteriologici dopo la vaccinazione non furono completati [26].

Nel 1941, Felton e colleghi confrontarono l'immunogenicità di un vaccino pneumococcico sierotipo-specifico a pneumococcico polisaccaridico senza evidenziare differenze significative nei titoli anticorpali elicitati dalla vaccinazione. Entrambi i vaccini testati erano costituiti dalle cellule intere o dai polisaccaridi capsulari purificati appartenenti ai sierotipi 1 e 2 [6].

Fra il 1942 e il 1945, Heidelberger and Colin M. MacLeod (1909–1972), sulla base dei precedenti successi della tecnologia vaccinale basata sui polisaccaridi capsulari, riuscirono a sviluppare e testare un vaccino polisaccaridico protettivo nei confronti di quattro sierotipi (1, 2, 5 e 7) [26]. A partire dal 1947, E.R. Squibb & Sons ottenne la licenza per distribuire negli Stati Uniti due formulazioni di un vaccino pneumococcico polisaccaridico esavalente: la formulazione per la popolazione adulta conteneva i

polisaccaridi dei sierotipi 1, 2, 3, 5, 7 e 8, mentre la differente distribuzione dei sierotipi in età pediatrica aveva portato a una differente formulazione per i bambini, contenente i sierotipi 1, 4, 6, 14, 18 e 19 [26]. I due vaccini non ebbero larga diffusione poiché i medici, nell'immediato dopoguerra, preferivano trattare le polmoniti con gli antibiotici di nuova introduzione quali penicillina, clorotetraciclina e cloramfenicolo, mentre la possibilità di prevenzione delle infezioni attraverso la vaccinazione fu pressoché ignorata. La produzione dei due vaccini esavalenti fu pertanto interrotta nel 1951 e la Squibb ritirò volontariamente la loro licenza nel 1954. Negli anni seguenti, l'industria farmaceutica condusse poche ricerche aggiuntive sui vaccini pneumococcici polisaccaridici. Tuttavia, nel 1968 Eli Lilly cominciò la produzione di vaccini sotto contratto con il National Institute of Health (NIH) statunitense. In parte, l'impegno di NIH fu motivato da un ricercatore-clinico di nome Robert Austrian (1916-2007). Austrian non accettava i fallimenti terapeutici nei confronti di patogeni a rapida incubazione come Sp, pertanto egli catalogò la frequenza di terapie inadeguate nei confronti di Sp, organizzò studi epidemiologici sulla frequenza sierotipico, e organizzò ulteriori sperimentazioni cliniche su vaccini polisaccaridici per determinare la loro utilità clinica. In particolare, a partire dall'agosto 1972, Austrian coordinò sperimentazioni cliniche su vaccini pneumococcici polisaccaridici 6- e 12- valente. Nel 1975, però, Lilly stante le difficoltà a formulare una propria formulazione del vaccino polisaccaridico decise di investire il proprio capitale in differenti aree terapeutiche [6].

Nel contempo, un'altra azienda farmaceutica, la Merck Sharp and Dohme (MSD), avviò un programma di ricerca sul vaccino pneumococcico, fondato sull'*expertise* acquisito nello sviluppo e nella produzione del vaccino polisaccaridico meningococcico sviluppato per l'esercito statunitense.

L'azienda sviluppò diverse formulazioni vaccinali a differente valenza, ma solo dopo avere testato ciascun singolo polisaccaride per valutarne sicurezza e immunogenicità e agli inizi degli anni '70 avviò la fase di sperimentazione clinica che dimostrò un'efficacia pari al 76% e al 92% nella prevenzione delle polmoniti pneumococciche rispettivamente dei vaccini 6 e 12-valente [26]. I risultati di queste sperimentazioni, insieme all'avvio delle sorveglianze sierotipiche in America settentrionale, Europa e Sudafrica e alla diffusione delle resistenze antibiotiche alle penicilline, portarono MSD a richiedere l'autorizzazione al commercio per un vaccino pneumococcico coniugato 14- valente. L'autorizzazione fu rilasciata nel Novembre 1977 [26]. Nell'anno successivo, l'Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP) statunitense raccomandò la somministrazione del vaccino nei soggetti a partire da 2 anni di età con condizione croniche che determinassero un aumentato rischio di infezione pneumococcica o come misura di controllo delle epidemie nelle strutture di cura. Alla base dell'autorizzazione di questo e di un altro vaccino 14-valente sviluppato dai laboratori Lederle, vi era la riduzione dell'incidenza delle patologie invasive e della polmonite pneumococcica documentata negli studi clinici condotti durante gli anni '70 [26]. Sin da subito, gli esperti di Sp riconobbero la necessità di espandere la protezione nei confronti di uno spettro più ampio di sierotipi e, al fine di individuare i sierotipi con maggiore prevalenza su scala globale, fu promosso un gigantesco studio coordinato da numerosi governi nazionali e dall'OMS. Sulla base delle evidenze epidemiologiche raccolte nell'ambito di questo studio, fu raccomandata l'introduzione di un vaccino 23-valente [6]. In effetti, a partire dal 1923 sia MSD sia Lederle introdussero un vaccino pneumococcico polisaccaridico 23-valente (PPV23) in grado di offrire, negli USA, una protezione nei confronti dell'87% delle malattie invasive da Sp. PPV23 conteneva 25 µg di antigene polisaccaridico, contro i 50 µg contenuti nel vaccino 14-valente. Questa

riduzione era necessaria per meglio bilanciare sicurezza e immunogenicità dei preparati [26].

L'ACIP, attraverso le sue raccomandazioni pubblicate nel maggio 1984, per la prima volta incoraggiò alla vaccinazione routinaria non solo i soggetti affetti da condizioni di rischio ma anche gli adulti sani con età superiore ai 65 anni. Tuttavia i vaccini pneumococcici polisaccaridici si sono dimostrati scarsamente immunogenici, in particolare nei bambini di età inferiore ai 2 anni che sono a maggior rischio di sviluppare la patologia invasiva da Sp.

Pertanto, con lo scopo di migliorare la risposta immunogenica agli antigeni capsulari nei bambini più piccoli, è stata sviluppata e testata una terza generazione di vaccini pneumococcici in cui i polisaccaridi capsulari erano coniugati con proteine *carrier*. Intorno al 1980, John B. Robbins e Rachel Schneerson, basandosi sul precedente lavoro di Avery, svilupparono ulteriormente la tecnologia di coniugazione dei polisaccaridi capsulari: in particolare, utilizzando il polisaccaride capsulare dell'*Haemophilus influenzae* tipo b (Hib) e del sierotipo pneumococcico 6A, testarono, in alcuni studi pilota condotti presso i laboratori del CDC, l'utilizzo di albumina sierica, emocianina del *Limulus*, la tossina difterica, la tossina tetanica e il tossoide tetanico come proteine *carrier*. I loro successi diedero un impulso fondamentale nello sviluppo di questa tecnologia e il primo vaccino polisaccaridico coniugato, nella forma di un vaccino coniugato contro Hib fu autorizzato nel 1987, mentre il primo vaccino pneumococcico coniugato 7-valente (PCV7) fu autorizzato nel 2000 [26]. Come descritto nel dettaglio successivamente, l'utilizzo su larga scala di PCV7, somministrato esclusivamente in età pediatrica, è stato associato a un aumento dell'incidenza delle malattie invasive e non invasive determinate da sierotipi non vaccinali di Sp, in particolare il sierotipo 19A.

Tale fenomeno, noto come *replacement* sierotipico, ha evidenziato l'esigenza per la Sanità Pubblica di un vaccino a maggior copertura sierotipica. A partire dai primi anni dell'attuale decennio sono stati autorizzati due vaccini a spettro antigenico allargato, rispettivamente 10- e 13-valente. Altri vaccini a spettro ulteriormente più esteso sono attualmente in fase di sviluppo o di avanzata ricerca clinica [26].

2. IL VACCINO PNEUMOCOCCICO POLISACCARIDICO 23-VALENTE (PPV23)

Come precedentemente riportato, PPV23 è stato registrato negli USA nel 1983. La formulazione contiene 25 µg di polisaccaridi capsulari purificati di ognuno dei 23 sierotipi di Sp (1, 2, 3, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F, 33F) che, nell'insieme, erano responsabili di circa il 90% dei casi di patologie invasive nei paesi industrializzati. PPV23 è raccomandato per l'immunizzazione attiva contro le malattie sostenute dai sierotipi pneumococcici presenti nel vaccino. Il vaccino è raccomandato nei soggetti di età pari o superiore a 2 anni, a elevato rischio di patologia e mortalità da infezione pneumococcica. Le categorie considerate a rischio, per le quali è necessaria l'immunizzazione, sono state identificate da differenti

raccomandazioni nazionali e internazionali. PPV23 non protegge dalle infezioni mucosali e non riduce la colonizzazione nasofaringea da Sp nei portatori. PPV23 è stato diffusamente utilizzato nella pratica clinica, particolarmente negli USA dove sono stati vaccinati circa il 60% dei soggetti anziani e circa il 30% degli adulti di età compresa fra 50 e 65 anni presentanti condizioni di rischio. Negli altri paesi dove PPV23 è stato raccomandato, i risultati delle campagne di vaccinazioni, in termini di tassi di copertura vaccinale, sono stati notevolmente inferiori. I sub-ottimali tassi di copertura vaccinale ottenuti con PPV23 possono essere, almeno in parte, attribuiti ad alcuni limiti che il vaccino ha presentato in termini di risposta immunogenica ed efficacia protettiva sia nei confronti delle patologie invasive nei soggetti affetti da condizioni croniche di comorbidità sia nei confronti delle patologie non invasive nella popolazione generale [27-29]. Tali criticità sono ascrivibili ad alcuni limiti intrinseci ai vaccini polisaccaridici

non coniugati di stimolare un'adeguata risposta immunitaria e di indurre una memoria immunologica. Difatti, è noto come i polisaccaridi capsulari contenuti in PPV23 siano in grado elicitarlo, attraverso un meccanismo T-indipendente, la semplice differenziazione di popolazioni di plasmacellule a breve emivita responsabile della produzione di anticorpi, principalmente della classe Ig2, diretti contro gli antigeni capsulari di Sp [30]. Tuttavia, PPV23 non è in grado di stimolare appropriatamente né una risposta immunitaria cellulo-mediata né la creazione di una memoria immunologica, in quanto processi immunologici strettamente T-dipendenti. Ciò ha importanti implicazioni sia dal punto di vista dell'immunogenicità del vaccino nelle prime fasi della vita - PPV23 è scarsamente immunogeno nei bambini d'età inferiore ai due anni a causa della scarsa capacità di risposta di questi soggetti agli antigeni Tindipendenti, quali i polisaccaridi capsulari - sia sulla durata della protezione successiva all'immunizzazione primaria. In linea generale, i titoli anticorpali contro gli antigeni capsulari diminuiscono sostanzialmente entro i primi 1-2 anni dalla vaccinazione primaria sino quasi a scomparire a distanza di 5 anni dalla somministrazione di PPV23 [31]. Inoltre, la risposta immunitaria T-indipendente, limita fortemente anche l'utilità della somministrazione di dosi booster che, nel caso di PPV23, hanno dimostrato l'induzione di una risposta immunologica addirittura inferiore di quella ottenuta con la vaccinazione primaria [30]. Infatti, recenti studi hanno evidenziato come PPV23, somministrato in più dosi negli adulti e nei bambini d'età superiore ai due anni, possa indurre una risposta di tipo tollerogenico determinando un'iporesponsività agli antigeni capsulari [32]. In relazione a questo fenomeno, le raccomandazioni italiane, in accordo con quanto enunciato nei documenti redatti dall'OMS, prevedevano una singola rivaccinazione con PPV23 da effettuarsi a distanza di 5 anni dalla somministrazione della prima dose, mentre le più recenti

raccomandazioni dell'ACIP raccomandavano la ri-vaccinazione esclusivamente in soggetti ad alto rischio di età compresa fra 19 e 64 anni [33,34]. Inoltre, come menzionato in precedenza, i risultati degli studi condotti in circa 30 anni di esperienza clinica e di ricerca con PPV23 hanno fornito risultati estremamente controversi relativamente all'efficacia sperimentale e reale di questo preparato vaccinale, anche se alcuni limiti metodologici e la disomogeneità delle popolazioni incluse negli studi clinici sembrano limitare la possibilità interpretativa. Ulteriori fattori contribuiscono alla difficile valutazione dell'efficacia reale del vaccino fra cui i più importanti sono: (i) la scarsa frequenza degli outcome con maggiore specificità (la patologia invasiva), (ii) la scarsa accuratezza e univocità dei criteri diagnostici adottati per definire l'outcome a maggiore incidenza, e (iii) la variabilità dell'efficacia vaccinale in relazione all'età e alla severità delle altre patologie concomitanti [27-29]. Le due più recenti metanalisi, condotte dal Cochrane Collaboration, hanno analizzato i risultati degli studi pubblicati in letteratura sottolineando ulteriormente tali criticità [35,36]. In particolare, la più recente metanalisi, pubblicata nel 2013, ha valutato i risultati di 18 studi clinici randomizzati e controllati (randomized clinical trials - RCT) (n = 64.852 soggetti partecipanti) e 7 studi clinici controllati e nonrandomizzati (n = 62,294 soggetti partecipanti) condotti nella popolazione adulta. I risultati dei RCT dimostrano, con solide evidenze, l'efficacia di PPV23 nel prevenire le malattie invasive sostenute da Sp (OR = 0,26; IC95% = 0,14 – 0,45). Inoltre gli RCT hanno mostrato l'efficacia di PPV23 nel prevenire la polmonite da tutte le cause in contesti a basso reddito (OR = 0,54; IC95% = 0,43 – 0,67), ma non in contesti ad alto reddito sia per quanto riguarda la popolazione generale (OR = 0,71; IC95% = 0,45 – 1,12) sia nei pazienti affetti da patologie croniche (OR = 0,93; IC95% = 0,73 – 1,19). Analogamente PPV23 non si è dimostrato in grado di ridurre la mortalità da tutte le cause (OR = 0,90; IC95% = 0,74 –

1,09). Pertanto i dati raccolti e analizzati in questa metanalisi supportano l'utilizzo di PPV23 unicamente come strumento di prevenzione delle patologie invasive sostenute da Sp [35].

La seconda metanalisi ha valutato l'efficacia di PPV23 nel prevenire la polmonite ed episodi di esacerbazione acuta nei pazienti affetti da broncopneumopatia cronica ostruttiva. Complessivamente sono stati considerati 7 RCT con una popolazione totale di pazienti studiati pari 1372 relativamente alla prevenzione della polmonite e a 216 per la prevenzione delle ri-esacerbazioni acute della patologia polmonare cronica ostruttiva. Gli studi tuttavia non dimostrano l'efficacia del preparato vaccinale né nei confronti delle polmoniti (OR = 0,72; IC95% = 0,51 – 1,01) né nei confronti delle riacutizzazioni di broncopneumopatia cronica ostruttiva (OR = 0,58; IC95% = 0,30 – 1,13). Inoltre, il vaccino non si è dimostrato in grado di ridurre le ospedalizzazioni o gli accessi al Pronto soccorso né di diminuire la mortalità da tutte le cause e quella specifica per cause cardiorespiratorie [36].

3. IL VACCINO PNEUMOCOCCICO CONIUGATO 7-VALENTE (PCV7)

Il primo vaccino pneumococcico coniugato eptavalente (PCV7) (PrevenarTM, Wyeth) è stato approvato e introdotto in USA nel 2000, raccomandato per i bambini d'età inferiore ai 2 anni secondo una schedula a tre dosi, seguita da una successiva dose booster tra 15-18 mesi di vita.

Il vaccino PCV7 è costituito da polisaccaridi capsulari purificati dei sierotipi maggiormente coinvolti nelle malattie invasive nei primi anni di vita (4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, 23F) coniugati all'anatossina difterica CRM197. Come precedentemente illustrato, la coniugazione dei polisaccaridi capsulari con proteine carrier è in grado di elicitarne, attraverso un meccanismo Tdipendente, una buona risposta immune nei bambini di età inferiore ai 2 anni, negli anziani e nei soggetti immunodepressi. Inoltre i vaccini allestiti con questa tecnologia sono in grado di determinare memoria immunologica e di sopprimere la colonizzazione nasofaringea riducendo il numero dei portatori e la conseguente diffusione del microrganismo nella comunità [37].

4. IMPATTO DELL'UTILIZZO DEL VACCINO PNEUMOCOCCICO CONIUGATO 7 -VALENTE (PCV7)

L'impatto sulle patologie invasive e non invasive sostenute da *Streptococcus pneumoniae*

L'introduzione di PCV7 nel contesto di strategie vaccinali di Sanità Pubblica e il rapido incremento dei tassi di copertura vaccinale nei bambini ha determinato una significativa riduzione dell'incidenza di patologie invasive sostenute da Sp, sia negli USA sia in tutti i paesi in cui l'uso del vaccino è stato approvato. La riduzione dell'incidenza delle patologie invasive è stata determinata sia dall'effetto protettivo diretto esercitato da PCV7 nei bambini vaccinati, sia dall'effetto di *herd immunity* negli adulti.

Negli USA, dove PCV7 è stato utilizzato a partire dal 2000 per l'immunizzazione di tutti i nuovi nati e dei bambini con condizioni di rischio per lo sviluppo di patologia invasiva, i benefici dell'introduzione del vaccino

nella popolazione *target* dell'intervento vaccinale sono stati notevoli e praticamente immediati. Sulla base dei risultati forniti dall'Active Bacterial Core Surveillance (ABCs), un sistema di sorveglianza attiva basato su dati di laboratorio, la riduzione più marcata dell'incidenza di patologia invasiva da Sp è stata registrata nei bambini sotto l'anno d'età (-80%), popolazione che mostrava i più alti tassi di incidenza prima dell'introduzione del vaccino [38]. Ulteriori dati fornito dal medesimo sistema di sorveglianza attivo negli USA hanno confermato, successivamente all'introduzione di PCV7, la sostanziale riduzione dei tassi di incidenza di malattia invasiva nella popolazione generale, con una diminuzione del 45% delle malattie invasive sostenute da tutti i sierotipi di Sp e del 94% per le patologie sostenute dai sierotipi vaccinali di Sp [39,40].

In particolare, il monitoraggio di un campione di popolazione di oltre 1 milione di soggetti ha registrato una riduzione del 100% delle patologie invasive sostenute da sierotipi vaccinali e del 76% delle patologie sostenute da tutti i sierotipi di Sp nei bambini di età inferiore a 5 anni [39,40].

Come anticipato, la vaccinazione universale dei nuovi nati ha quasi immediatamente determinato una protezione indiretta della popolazione non vaccinata. Già nel 2003, PCV7 aveva indirettamente evitato oltre il doppio dei casi di malattia invasiva di quelli prevenuti attraverso l'effetto diretto della vaccinazione [38]. Tal effetto si è mantenuto anche negli anni successive ed è risultato particolarmente marcato nei soggetti di età superiore ai 65 anni, popolazione nella quale si è assistito a una riduzione dell'incidenza di patologia invasiva da Sp pari al 37% per i quadri sostenuti da tutti i sierotipi del microrganismo e addirittura del 92% per i quadri sostenuti dai sierotipi vaccinali [39].

Questo fenomeno è attribuibile e riconducibile alla ridotta circolazione di Sp all'interno della comunità come conseguenza della riduzione della condizione di colonizzazione a livello rinofaringeo nella popolazione vaccinata.

L'ampio utilizzo di PCV7 ha, inoltre determinato, importanti implicazioni dal punto di vista dell'antibiotico-resistenza dei sierotipi di Sp circolanti nella comunità statunitense. Infatti, i sierotipi inclusi nella formulazione vaccinale erano quelli che avevano dimostrato una più ampia resistenza a diverse classi di antibiotici.

Dopo l'introduzione del vaccino coniugato, nei bambini statunitensi di età inferiore ai 2 anni è stata registrata una riduzione pari all'81% delle patologie invasive sostenute da sierotipi resistenti alla penicillina e dell'85% delle patologie invasive sostenute da sierotipi resistenti ai macrolidi [41-43]. Inoltre, come ulteriore conseguenza della protezione indiretta offerta da PCV7, si è registrata una concomitante riduzione di

patologia invasiva sostenuta da sierotipi resistenti agli antibiotici anche negli anziani [41].

Risultati analoghi a quelli statunitensi, sono stati registrati anche in altri Paesi che hanno adottato strategie di vaccinazione universale dei nuovi nati. In Canada, dove PCV7 è utilizzato per la vaccinazione dei nuovi nati a partire dal 2002, un'ampia sorveglianza attiva, condotta nei soggetti di età inferiore ai 16 anni nel periodo 2000-2007, ha dimostrato che il numero assoluto di casi di malattia invasiva è diminuito complessivamente del 48% nel corso del periodo dello studio, con una riduzione più marcata nei bambini di età inferiore ai 4 anni (56%). Considerando esclusivamente le patologie invasive sostenute dai sierotipi vaccinali, è stata registrata una riduzione complessiva dell'87,5% dei casi, mentre nei bambini di età inferiore ai 4 anni la riduzione è risultata pari al 92% [44].

Dati positive sono stati registrati anche nei paesi europei che hanno adottato strategie di vaccinazione universali nei primi due anni di vita basate sulla somministrazione di PCV7 in accordo alla schedula vaccinale classica (3 dosi + 1) o della schedula semplificata (2 dosi + 1). In Inghilterra e Galles è stata registrata un'efficacia sul campo nel prevenire le patologie invasive pari al 72%, mentre in Norvegia l'efficacia è risultata pari al 74% [45,46].

In Francia, dove la vaccinazione con PCV7 è stata introdotta nel 2003, i casi di meningite sostenuta da Sp nei bambini di età inferiore ai 2 anni sono diminuiti da 9,3 a 5,4 ogni 100.000 abitanti, mentre i casi di sepsi sono diminuiti da 22,4 a 16,6 ogni 100.000 abitanti [47].

Il primo rapporto sull'efficacia reale di PCV7 in Danimarca ha dimostrato come, a distanza di 1 anno dall'introduzione del vaccino, l'incidenza complessiva di malattia invasiva nei bambini di età inferiore ai 2 anni sia diminuita da 54 a 23 casi ogni 100.000

abitanti, mentre l'incidenza di patologie invasive sostenute da sierotipi vaccinali nella stessa popolazione sia diminuita da 36,7 a 7,7 casi ogni 100.000 abitanti [48].

In Italia, PCV7 è stato commercializzato a partire dall'ottobre 2001. Il Ministero della Salute ne ha inizialmente raccomandata l'offerta attiva e gratuita solo per i bambini di età inferiore ai 5 anni e affetti da specifiche condizioni di rischio (anemia falciforme, talassemia, asplenia, etc.). La Liguria è stata la prima Regione italiana a introdurre, a partire dal 2003, PCV7 nel calendario regionale delle vaccinazioni, raccomandandone la somministrazione a tutti i nuovi nati nel primo anno di vita in accordo a una schedula vaccinale semplificata. Uno studio volto a valutare gli effetti della campagna di vaccinazione nei soggetti fra 0 e 2 anni ha dimostrato, dopo l'introduzione di PCV7, una diminuzione dei tassi di ospedalizzazione per polmonite da tutte le cause, polmonite pneumococcica e otite media acuta, rispettivamente pari al 15%, al 70,5% e al 36,4% [49]. Questi risultati dimostrano, in linea con altre esperienze di ricerca, l'efficacia di PCV7 non solo nella prevenzione della patologia invasiva ma anche delle malattie mucosali non invasive sostenute da Sp.

In quest'ambito, particolare interesse rivestono i dati raccolti nell'ambito del *Nationwide Inpatient survey system* statunitense che hanno dimostrato, a seguito dell'introduzione di PCV7, una riduzione del tasso di ospedalizzazione per polmonite da tutte le cause pari al 39% nei bambini di età inferiore ai due anni e del 75% per le polmoniti sostenute da Sp [50]. Questi risultati, ottenuti nel 2004, sono sovrapponibili con quelli riportati in uno studio più recente in cui il tasso di ospedalizzazione per polmonite da tutte le cause in bambini di età inferiore ai due anni risultava diminuito del 35% [51]. Un ulteriore studio statunitense ha dimostrato, oltre ad una riduzione del 52,4% nel numero di ospedalizzazioni per polmonite da tutte le cause, anche una

diminuzione del numero delle visite ambulatoriali per lo stesso quadro clinico nella popolazione

pediatrica [52].

Analogamente a quanto evidenziato per le polmoniti come effetto dell'introduzione di PCV7, anche il numero di visite ambulatoriali per otite media acuta è diminuito del 20% nei bambini di età inferiore ai 2 anni [53], mentre altri autori hanno descritto una riduzione pari al 42,7% nella stessa popolazione [54]. La riduzione del numero di visite ambulatoriali per otite media acuta è stata accompagnata dalla concomitante diminuzione nel numero di interventi chirurgici per il trattamento delle complicazioni dell'otite media acuta [55].

Replacement sierotipico

Precedentemente all'introduzione di PCV7, i sierotipi di Sp successivamente inseriti nella formulazione vaccinale erano responsabili di circa l'80% delle patologie invasive pneumococciche registrate negli USA, del 70% di quelle registrate in Europa e del 40-80% dei quadri patologici registrati nelle altre regioni del globo [1].

Nonostante, il rilevante impatto del vaccino nella riduzione dell'incidenza delle patologie invasive e non invasive, la concomitante riduzione della presenza dei sierotipi vaccinali nei portatori, avvenuta in conseguenza dell'introduzione del vaccino PCV7, ha creato una nicchia ecologica per i sierotipi non vaccinali, determinando un aumento del ruolo di questi ultimi nel determinare la patologia invasiva da Sp. Tale fenomeno è denominato *replacement* sierotipico.

Uno studio di sorveglianza prospettica, condotto in un periodo di 15 anni su tutte le patologie invasive sostenute da Sp confermate laboristicamente nei neonati e nei

bambini ospedalizzati presso 8 ospedali pediatrici statunitensi, ha dimostrato che la complessiva riduzione del numero di casi di patologia invasiva è stata determinata da un'iniziale drammatica diminuzione dei casi, mentre negli anni successivi si è assistito a un nuovo aumento dei casi prevalentemente attribuibili al sierotipo 19A. In particolare, nel 2007 e nel 2008, solo il 4% degli isolati erano riconducibili a sierotipi vaccinali, mentre il sierotipo 19A rappresentava il 46% dei sierotipi non vaccinali identificati e i sierotipi uno, 3 e 7F rappresentavano un ulteriore 22% dei sierotipi non vaccinali [56]. Ulteriori dati, ottenuti da circa 30 mila casi di patologia invasiva pneumococcica confermata in laboratorio, hanno confermato lo stesso trend [39].

L'emergenza di sierotipi pneumococcici non contenuti nel PCV7, e in particolare la diffusione del sierotipo 19A, è stata descritta anche in Europa. I risultati della tipizzazione di 282 Sp, isolati nel 2007 in Francia da bambini e adulti affetti da patologia invasiva pneumococcica, hanno dimostrato come il sierotipo 19A fosse l'isolato più frequente in entrambe le popolazioni [57].

Anche in Norvegia, il sierotipo 19A è stato identificato come la principale causa di patologia invasiva pneumococcica successivamente all'introduzione di PCV7 [58].

Per quanto riguarda le polmoniti batteriemiche, uno studio osservazionale condotto nel periodo 2007-2009 in 292 soggetti di età compresa fra 0 e 16 anni ospedalizzati con diagnosi di CAP in 83 ospedali pediatrici italiani ha evidenziato come in 80 casi l'agente etiologico fosse Sp e i sierotipi 1 e 19° fossero quelli isolati con maggiore frequenza (rispettivamente nel 32,5% e nel 15,0% dei casi) [59]. Infine, in Liguria, successivamente all'introduzione di PCV7 a partire dal 2003, si è assistito a una globale riduzione del numero di isolati clinici di Sp riconducibili a sierotipi vaccinali: la proporzione dei sierotipi vaccinali è diminuita da un'iniziale 51%, riportato prima dell'introduzione del vaccino dal sistema di sorveglianza nazionale, al 38% nel periodo

2006-2008 sino al 10% nel biennio 2009-2010 con un concomitante aumento dei sierotipi non

vaccinali e, in particolare, 1, 7F e 19A [60].

Inoltre, l'introduzione di PCV7 in Liguria ha modificato anche l'epidemiologia dei portatori di Sp a livello rinofaringeo. Uno studio trasversale, condotto su 699 bambini genovesi di età inferiore ai 5 anni, ha dimostrato un'alta prevalenza di soggetti portatori dei sierotipi non vaccinali 5 e 19A riscontrabili, rispettivamente nel 15,2% e nell'8,8% della popolazione in studio [61].

5. I NUOVI VACCINI PNEUMOCOCCICI CONIUGATI A SPETTRO ANTIGENICO ALLARGATO

Il fenomeno del *replacement*, descritto nel precedente paragrafo, ha rappresentato il razionale epidemiologico per lo sviluppo di una nuova generazione di vaccini pneumococcici a spettro antigenico allargato.

In particolare, a tale categoria appartengono:

- il vaccino pneumococcico coniugato 10-valente (PCV10) in cui i polisaccaridi 1, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 14, 18C, 19F, 23F sono coniugati con una lipoproteina della superficie cellulare (proteina D) di *Haemophilus*

influenzae non tipizzabile; tale vaccino è stato autorizzato dall'European Medicine Agency (EMA) nel 2009;

- il vaccino pneumococcico coniugato 13-valente (PCV13), allestito con la stessa tecnologia del PCV7 e diretto, oltre che contro i sierotipi del PCV7, contro i sierotipi 1, 3, 5, 6A, 7F, e 19A; tale vaccino è stato autorizzato dall'EMA il 13 dicembre 2009.

Entrambi i nuovi preparati, così come già dimostrato da PCV7, presentano, da un punto di vista immunogenico, il vantaggio di coniugare gli antigeni polisaccaridici con una proteina *carrier*, col risultato di stimolare una risposta immune T-dipendente, che porta a una risposta immune più intensa e duratura nel neonato e nel bambino, e al “booster” seguente alla presentazione dell'antigene.

I principali risultati delle sperimentazioni cliniche condotte con il vaccino pneumococcico coniugato 13-valente

L'introduzione in commercio di PCV13 è stata preceduta da un'estesa fase di sperimentazione clinica volta a dimostrare la non inferiorità del nuovo preparato vaccinale rispetto ai vaccini pneumococcici già utilizzati nella pratica clinica [27,28].

In particolare, poiché in numerosi paesi PCV7 era somministrato in concomitanza con le altre vaccinazioni dell'infanzia, fra cui il vaccino esavalente (contro tetano, difterite, pertosse, poliomielite, epatite B e *Haemophilus influenzae* tipo B), è stato necessario dimostrare che la concomitante somministrazione di PCV13 con il vaccino esavalente fosse sicura, ben tollerata e i due vaccini non interferissero dal punto di vista della risposta immunitaria. A tale scopo, in Italia è stato condotto uno studio clinico di fase III per confrontare la sicurezza e l'immunogenicità di PCV13 rispetto a PCV7 quando somministrati in maniera concomitante al vaccino esavalente.

Nello studio clinico sono stati inclusi 606 neonati, assegnati in maniera randomizzata ai due bracci di studio. I vaccini sono stati somministrati al terzo, al quinto e all'undicesimo mese di vita come raccomandato dal calendario di immunizzazione dell'età pediatrica. L'immunogenicità dei vaccini, valutata 1 mese dopo la somministrazione della serie primaria di due dosi e 1 mese dopo la dose somministrata all'undicesimo mese di vita, è stata misurata in termini di risposta anticorpale nei confronti degli antigeni contenuti nel vaccino esavalente e in termini di risposta anticorpale sierotipo-specifica nei confronti degli antigeni capsulari di pneumococco. Inoltre, in un sottogruppo di soggetti la risposta anticorpale è stata valutata anche attraverso il saggio per misurare l'attività opsonofagocitico degli anticorpi.

La risposta anticorpale nei confronti degli antigeni contenuti nel vaccino esavalente è risultata sovrapponibile sia quando somministrato con PCV7 sia in concomitanza con

PCV13. Inoltre, il nuovo vaccino pneumococcico ha elicitato una buona risposta anticorpale nei confronti dei polisaccaridi capsulati dei 13 sierotipi di Sp contenuti nella formulazione vaccinale, con un marcato aumento delle concentrazioni di anticorpi dopo la terza dose di vaccino.

L'immunogenicità fra i due preparati anti-pneumococcici è risultata comparabile al termine del ciclo vaccinale e PCV13 si è dimostrato in grado di stimolare rilevanti livelli di attività opsonofagocitica nei confronti dei 13 sierotipi vaccinali [62].

Risultati analoghi sono stati ottenuti anche negli studi di co-somministrabilità condotti con schedule vaccinali a 4 dosi [63]. Sulla base di questi importanti risultati, PCV13 è stato approvato dapprima in Cile nel luglio 2009 e negli Stati Uniti nel febbraio 2010. Nel corso del 2010, il vaccino PCV13 è stato inserito nel calendario vaccinale dell'età pediatrica in numerosi Paesi Europei e Americani dove è stato ampiamente somministrato

per la prevenzione delle patologie invasive, della polmonite e dell'otite media acuta sostenuta da Sp nei bambini di età compresa fra 6 mesi e 5 anni, sostituendo nella pratica clinica la somministrazione di PCV7.

Risultati dei principali studi clinici condotti con vaccini pneumococcici coniugati in soggetti adulti

Il rilevante impatto di Sp nei soggetti adulti insieme alla controversa efficacia di PPV23 nei soggetti a più alto rischio di malattia invasiva pneumococcica e polmonite, attribuibile ai già illustrati limiti immunologici dei preparati polisaccaridici, hanno recentemente condotto a studiare l'immunogenicità dei preparati coniugati nei soggetti adulti e anziani.

In uno studio pilota, condotto in 220 anziani di età compresa fra 70 e 79 anni che avevo ricevuto PPV23 almeno 5 anni prima dell'inclusione nello studio, i partecipanti sono stati assegnati a ricevere PCV7 in diverse formulazioni (dosi di 0,1; 0,5; 1 o 2 ml) o la dose standard di PPV23. I risultati di tale studio hanno dimostrato che una dose da 1 ml di PCV7 fosse più immunogenica di PPV23 nei soggetti anziani precedentemente vaccinati con quest'ultimo preparato; entrambi i vaccini si sono dimostrati sicuri e ben tollerati nella popolazione in studio [64].

Un altro studio ha confrontato l'immunogenicità di PCV7 rispetto a PPV23 in 220 soggetti di età superiore a 70 anni che non erano stati precedentemente vaccinati con un preparato anti-pneumococcico. Un anno dopo la somministrazione della prima dose di vaccino, i soggetti vaccinati con PCV7 ricevevano una dose booster o con PCV7 o con PPV23, mentre tutti gli individui inizialmente vaccinati con PPV23 ricevevano una dose booster con PCV7. I risultati dello studio hanno dimostrato che la dose iniziale di PCV7 era più immunogenica di PPV23. Inoltre, l'iniziale somministrazione di PCV7 determinava una risposta immunologica che consentiva la successiva somministrazione sia di PCV7 sia di PPV23 allo scopo di mantenere un livello ottimale di anticorpi diretti contro i polisaccaridi capsulari, mentre la somministrazione iniziale di PPV23 determinava una condizione di iporesponsività. Conseguentemente, la successiva

somministrazione di PCV7 induceva una risposta anticorpale significativamente inferiore rispetto alla sola somministrazione di PCV7 [65].

Più recentemente, una sperimentazione clinica controllata, randomizzata, in doppio cieco ha confrontato l'immunogenicità, in termini di attività opsonofagocitica, di una singola dose di PCV13 o PPV23 in 835 adulti di età compresa fra 60 e 64 anni. Inoltre, in un gruppo aggiuntivo di 404 soggetti di età compresa fra 50 e 59 anni è stato somministrato il solo vaccino coniugato. Nei soggetti di età compresa fra 60 e 64 anni, un mese dopo la somministrazione di PCV13, i titoli degli anticorpi con attività opsonofagocitica erano significativamente maggiori rispetto a quelli elicitati da PPV23 per 8 dei 12 sierotipi in comune fra i due preparati (1, 4, 6B, 7F, 9V, 18C, 19A e 23F) e per il sierotipo 6A (contenuto esclusivamente nel PCV13), mentre era comparabile per gli altri 4 sierotipi in comune (3, 5, 14 e 19F). Per quanto riguarda i soggetti di età compresa fra 50 e 59 anni, i titoli anticorpali misurati un mese dopo la vaccinazione sono risultati significativamente più elevati rispetto a quelli riscontrati nei soggetti di età compresa fra 60 e 64 anni per 9 sierotipi, mentre sono risultati sovrapponibili nei restanti 4 sierotipi [66].

Un ulteriore RCT, condotto in doppio cieco su 938 soggetti di età superiore ai 70 anni, precedentemente vaccinati con una singola dose di PPV23 somministrata almeno 5 anni prima dell'arruolamento nello studio, ha valutato l'immunogenicità di PCV13 rispetto a PPV23. Inoltre, un anno dopo l'inclusione nello studio, tutti i soggetti hanno ricevuto una dose di PCV13.

Un mese dopo la somministrazione iniziale dei due vaccini, i titoli di anticorpi con attività opsonofagocitica sono risultati significativamente più elevati nei soggetti che avevano ricevuto PCV13 rispetto a coloro che avevano ricevuto PPV23 per 10 dei 12 sierotipi in comune fra i due vaccini (1, 4, 5, 6B, 7F, 9V, 18C, 19A, 19F e 23F) e per il

sierotipo 6A (contenuto esclusivamente nel PCV13), mentre erano comparabile per gli altri 2 sierotipi in comune (3 e 14).

Inoltre, i titoli anticorpali risultavano aumentati in risposta alla dose di PCV13 somministrata a un anno di distanza, ma erano generalmente più elevati nel gruppo che aveva ricevuto PCV13 all'arruolamento rispetto a coloro che avevano ricevuto PPV23 [67].

Sulla base dei risultati ottenuti nei suddetti studi, l'EMA a partire da Settembre 2011 ha esteso l'indicazione d'uso di PCV13 alla prevenzione delle patologie invasive da Sp negli adulti di età superiore a 50 anni [68].

Successivamente, a partire da maggio 2013, la stessa EMA ha esteso l'utilizzo di PCV13 anche in soggetti adulti a partire dai 18 anni d'età per la prevenzione delle malattie invasive pneumococciche e, con comunicato del 22 gennaio 2015, ha esteso l'indicazione d'uso alla prevenzione delle polmoniti causate da Sp nei soggetti di età superiore ai 18 anni. Ciò sulla base dei risultati ottenuti in un imponente *trial* clinico randomizzato, controllato con placebo, in doppio cieco in cui sono stati inclusi 84.496 soggetti di età superiore ai 65 anni. Nella popolazione in studio, PCV13 si è dimostrato efficace nel prevenire sia le polmoniti comunitarie non batteriemiche sia quelle batteriemiche sostenute da sierotipi vaccinali. Inoltre PCV13 è risultato efficace nel prevenire la patologia invasiva pneumococcica sostenuta da sierotipi vaccinali [69].

6. INDICAZIONI PER LA VACCINAZIONE PNEUMOCOCCICA NEGLI ADULTI IN ITALIA

Nel Piano Nazionale della Prevenzione Vaccinale (PNPV) 2017-2019, relativamente alla vaccinazione anti-pneumococcica dei soggetti adulti, è identificato un elenco di condizioni di rischio per morbosità o franca immunocompromissione su cui porre particolare attenzione nella promozione dell'offerta della vaccinazione; quelle formalmente riconosciute sono:

- cardiopatie croniche;
- malattie polmonari croniche;
- cirrosi epatica, epatopatie croniche evolutive da alcolismo;
- diabete mellito, in particolare se in difficile compenso;
- fistole liquorali;
- anemia falciforme e talassemia;
- immunodeficienze congenite o acquisite;
- asplenia anatomica o funzionale;
- leucemie, linfomi, mieloma multiplo;
- neoplasie diffuse;
- trapianto d'organo o di midollo;
- immunosoppressione iatrogena clinicamente significativa;
- insufficienza renale cronica, sindrome nefrosica;
- HIV-positivi;
- portatori di impianto cocleare.

Nel testo aggiornato del PNPV non sono contenute indicazioni sul vaccino da utilizzare, né sui criteri di scelta su cui operare. Ad oggi, pertanto, le indicazioni per la vaccinazione pneumococcica negli adulti variano da Regione a Regione.

La Regione Liguria, recependo il PNPV 2017-2019, ha emanato istruzioni operative per l'offerta gratuita ai soggetti di tutte l'età appartenenti ai gruppi a rischio individuati nel P. N. P. V. 2017-2019 (PCV13 / PPV23) e l'offerta attiva e gratuita alla fascia d'età dei sessantacinquenni (PCV13), come da PRPV (Regione Liguria.DGR n. 284 del 07/04/2017 e Deliberazione di A.Li.Sa. n.34 del 13/04/2017). In particolare, gli anziani di età maggiore o uguale ai 65 anni sono stati invitati alla vaccinazione tramite chiamata attiva attraverso una lettera, mentre i soggetti di ogni età con i fattori di rischio individuati dalla delibera possono accedere alla vaccinazione attraverso la prescrizione da parte del proprio medico di medicina generale.

*Parte
Sperimentale*

BACKGROUND

A partire dal maggio 2003, la regione Liguria è stata la prima regione italiana a introdurre la vaccinazione universale infantile con PCV7, adottando una schedula a tre dosi che prevedeva la somministrazione del vaccino a 3, 5 e 11-12 mesi d'età, in co-somministrazione con il tradizionale vaccino esavalente.

L'alto tasso di copertura vaccinale raggiunto in Liguria nell'arco di pochi anni- a partire da maggio 2003, i tassi di copertura vaccinale sono progressivamente e rapidamente aumentati dal 42,8% all'83,3% nel 2004, raggiungendo il 93,4% nel 2007 nelle 5 Aziende Sanitarie Locali attivate presso la regione Liguria - e il suo mantenimento nel tempo sono circostanze inusuali sia nel contesto italiano sia in quello europeo: per queste ragioni, la Liguria è stata considerata una sorta di "laboratorio europeo", in grado cioè di mostrare in anticipo il quadro epidemiologico futuro della malattia pneumococcica in una condizione di alta copertura vaccinale mantenuta per molti anni. A tale scopo, in Liguria è stato attivato, sin dall'introduzione del vaccino PCV7, un sistema di sorveglianza passiva delle malattie invasive causate da Sp. Questo sistema ha consentito di definire la distribuzione dei sierotipi circolanti e valutare eventuali fenomeni di "escape" vaccinale. Nel 2006, il sistema passivo è stato potenziato con un programma di sorveglianza attiva in grado di rilevare e caratterizzare i ceppi pneumococcici causa di malattia invasiva e non invasiva nei bambini e negli adulti.

Al fine di contrastare l'impatto dei sierotipi non compresi nel vaccino, nel corso dello scorso decennio è stata studiata e resa disponibile una nuova generazione di vaccini pneumococcici a spettro antigenico allargato a cui appartengono PCV10 e PCV13. In particolare, PCV13 è stato approvato all'uso per la prima volta in Cile nel luglio 2009 e negli USA nel febbraio 2010. Nel corso del 2010, il vaccino PCV13 è stato inoltre

inserito nel calendario vaccinale dell'età pediatrica in numerosi paesi Europei e Americani, di fatto rimpiazzando l'utilizzo di PCV7.

In recepimento delle indicazioni nazionali e internazionali, nell'estate 2010, la regione Liguria è stata fra le prime regioni italiane a sostituire, nel proprio piano regionale per la prevenzione vaccinale, PCV7 con il nuovo preparato 13-valente (Prevenar 13®, Pfizer).

Successivamente, nel settembre 2011 l'EMA ha autorizzato l'utilizzo di PCV13 negli adulti di età ≥ 50 anni.

Lo stesso è avvenuto negli Stati Uniti nel Dicembre 2011 quando la FDA ha approvato l'uso del PCV13 nello stesso target di età con l'indicazione per la prevenzione di patologie invasive da pneumococco e della polmonite acquisita in comunità causate dai sierotipi contenuti nel vaccino.

Come precedentemente descritto, la Regione Liguria ha emanato, nell' Aprile 2017, istruzioni operative per l'offerta attiva e gratuita di PCV13 negli adulti, in particolare per i soggetti di età maggiore o uguale a 65 anni o con fattori di rischio. (Regione Liguria.DGR n. 284 del 07/04/2017 e Deliberazione di A.Li.Sa. n.34 del 13/04/2017).

Alla luce della disponibilità di un vaccino efficace per la prevenzione della polmonite pneumococcica negli adulti e dei confortanti risultati ottenuti nel trial clinico volto a stabilire l'efficacia del PCV13 nel prevenire CAP pneumococciche causate da sierotipi del vaccino [69], uno studio, basato sulla popolazione, condotto con l'obiettivo di indagare il peso della LRTI e polmonite negli adulti risulta fondamentale per supportare i decisori politici circa la migliore strategia di utilizzo della vaccinazione pneumococcica.

La presente tesi di dottorato riporta i risultati dell'attività di ricerca, svolta in collaborazione con il Gruppo di lavoro Integrato per lo sviluppo delle Scienze Vaccinali (GISVA), e volta a descrivere il razionale epidemiologico della campagna di

immunizzazione con PCV13 e i risultati preliminari circa il suo impatto epidemiologico, sia in termini di efficacia che di tollerabilità e sicurezza sul campo, nella popolazione adulta in Liguria.

OBIETTIVI DELL'ATTIVITA' DI RICERCA

Gli obiettivi primari dell'attività di ricerca sono stati:

- valutare l'incidenza delle infezioni del tratto delle basse vie respiratorie (Low Respiratory Tract Infections - LRTI) e del ruolo dei fattori di rischio/co-morbidità nella popolazione adulta in termini di accessi al Pronto Soccorso (PS);
- valutare l'impatto dell'introduzione della vaccinazione PCV13 negli adulti di età ≥ 70 anni, in termini di accessi al Pronto Soccorso per LRTI;
- valutare on-field il profilo tollerabilità e sicurezza di PCV13 in termini di reazioni locali e sistemiche ed eventuale comparsa di eventi avversi non attesi.
- valutare l'efficacia di PCV13 nelle coorti vaccinate tra gli adulti di età ≥ 65 anni in termini di riduzione dell'incidenza di accessi al Pronto Soccorso (PS) per polmonite acquisita in comunità da pneumococco (pCAP) e polmoniti acquisite in comunità dovute a sierotipi contenuti nei vaccini (VT-CAP).

MATERIALI E METODI

Analisi epidemiologica dell'impatto delle infezioni del basso tratto respiratorio (Low Respiratory Tract Infection – LRTI) nell'adulto

L'impatto delle LRTI negli adulti è stato stimato attraverso una sorveglianza attiva degli accessi al PS mediante un Sistema di Sorveglianza Sindromica (SSS) attivo sul territorio dell'area metropolitana genovese dal 2007. Il SSS si basa su dati raccolti presso l'Ospedale Policlinico San Martino Genova, l'Ente Ospedaliero Galliera e l'IRCCS Gaslini e ha permesso di coprire il 72% di tutta l'area urbana di accessi al PS di adulti e bambini ed è coordinato da un centro di riferimento rappresentato dalla Sezione di Igiene e Medicina Preventiva del Dipartimento di Scienze della Salute (DiSSal), Università di Genova. La definizione delle sindromi sorvegliate, l'acquisizione, la trasmissione e l'elaborazione dei dati sono state operativamente descritte da Analdi e colleghi [70,71]. La popolazione dello studio è costituita dai soggetti adulti residenti a Genova, città di 650.000 abitanti, capoluogo della regione Liguria. Il periodo coperto dall'indagine è stato di 5 stagioni (settembre 2010/agosto 2011, settembre 2011/agosto 2012, settembre 2012/agosto 2013, settembre 2013/agosto 2014, settembre 2014/agosto 2015).

La popolazione affetta da fattori di rischio è stata identificata attraverso la banca dati del "Progetto Nocchiero", realizzato dall'Agenzia Regionale Sanitaria (ARS Liguria) nel 2008 [72]. Il "Progetto Nocchiero" ha, infatti, consentito di identificare gruppi di soggetti con caratteristiche cliniche omogenee e registrato malattie croniche e/o degenerative per le quali il trattamento è stato richiesto da parte del Sistema Regionale Sanitario. Un software specifico (SASc 9.1) è stato utilizzato per elaborare i dati delle seguenti fonti: schede di dimissione ospedaliera, esenzioni, richieste di servizi

specialistici ambulatoriali, farmaceutica regionale. Il database è stato stratificato per gruppi a rischio per cui è raccomandata la vaccinazione pneumococcica a livello nazionale e regionale: nello specifico, malattie cardiovascolari croniche, malattie respiratorie croniche, diabete mellito e altre malattie metaboliche, malattie renali croniche, immunodeficienza, trapianti e altre condizioni minori. Il database fornito dal Progetto Nocchiero ha costituito il denominatore per le successive elaborazioni e analisi sulla popolazione dell'area metropolitana genovese.

Gli accessi al PS per LRTI sono stati singolarmente analizzati e stratificati in base all'età e alla presenza di fattori di rischio dei soggetti, identificati attraverso il SSS, grazie alla possibilità di raccogliere per ogni singolo accesso tali informazioni.

Nello specifico il SSS si basa sull'individuazione elettronica e la cattura in tempo reale degli accessi al Pronto Soccorso che presentino parole chiave, specifiche per ogni sindrome, che compaiono nei campi "anamnesi", "quadro clinico" e "diagnosi di dimissione/ricovero". Dopodichè viene steso un report informativo dei casi nelle 24 ore del giorno precedente e il medico effettua una revisione critica di ogni caso registrato per individuare i pazienti rispondenti al quadro sindromico definito per ILI o LRTI.

Si calcola l'incidenza in termini di accesso al PS, si fa un'analisi dell'andamento per individuare tempestivamente episodi epidemici; in tal caso occorre comunicare il dato agli organi competenti che provvederanno ad attuare le misure di contenimento previste.

Valutazione dell'impatto della campagna vaccinale con PCV13 nell'adulto di età ≥ 70 anni

La valutazione dell'impatto della campagna di vaccinazione con PCV13 nella popolazione di adulti di età compresa tra i 70 e 75 anni o con fattori di rischio, è stata effettuata mediante uno studio cross-over sugli accessi al PS per LRTI, stimati mediante il citato SSS.

La necessità di limitare al minimo eventuali bias legati ai diversi pattern per fattori di rischio, presenza di patologie concomitanti, propensione all'accesso al PS della popolazione vaccinata e di controllo, ha condizionato la scelta di impiegare questo disegno di studio. È stata pertanto confrontata l'incidenza degli accessi al PS per LRTI nella stessa coorte di soggetti nel periodo pre- e post-vaccinazione. L'incidenza nel periodo post-immunizzazione è stata corretta per (i) l'aumentato rischio di accesso riconducibile all'invecchiamento della popolazione e (ii) il diverso pattern legato alla stagionalità. Entrambi i dati sono stati ricavati dal SSS implementato nel periodo 2010-2015. I fattori di correzione sopraelencati sono stati impiegati anche per la stima dell'incidenza attesa in assenza di intervento vaccinale.

La popolazione dello studio è rappresentata da una coorte di circa 30.000 individui di età compresa tra 70-75 anni, all'inizio dello studio, residenti a Genova (coorti di nascita: 1937, 1938, 1939, 1940, 1941 e 1942), che, in base alle indicazioni contenute nelle istruzioni operative regionali, hanno ricevuto o riceveranno il vaccino PCV13 nel periodo 2013-2015. La popolazione sorvegliata è quindi maggiore di 155.000 persone-anno, di cui circa 106.000 persone-anno nel periodo pre- e circa 50.000 persone-anno nel periodo post-vaccinazione, in base ad una stima dell'andamento della copertura vaccinale della coorte in aumento con lo scorrere del tempo (circa 2.000 vaccinati stimati nel primo anno di studio, circa 10.000 nel secondo, ecc.).

Nel secondo semestre del 2013 ha avuto inizio in Liguria la campagna vaccinale con PCV13: una volta avvenuta la somministrazione del vaccino, ciascun codice di identificazione personalizzato per ciascun cittadino è stato registrato e riportato in un database predisposto ad hoc. Il matching tra il codice di identificazione vaccinale e il codice della sorveglianza sindromica permette di identificare ogni singolo caso nel periodo pre- e post-vaccinazione.

Valutazione on-field del profilo di tollerabilità e sicurezza di PCV13

Per la valutazione on-field della tollerabilità e sicurezza di PCV13 somministrato in soggetti di età compresa tra 70 e 75 anni, è stato svolto uno studio osservazionale, spontaneo (in quanto condotto per rispondere a quesiti di carattere scientifico sull'utilizzazione e sulle caratteristiche del farmaco, e sostenuto dal Centro promotore dello studio), multicentrico, tra Ottobre 2013 e Maggio 2014, presso 5 ambulatori dell'ASL3 Genovese e l'Ambulatorio Vaccinazioni e Sperimentazioni Cliniche del DiSSal (centro coordinatore). La popolazione dello studio consisteva in soggetti di età uguale o maggiore a 70 anni, immunizzati con una singola dose di PCV13, con accesso spontaneo presso le strutture suddette, arruolati dopo l'espressione della volontà a partecipare allo studio raccolta mediante consenso informato scritto.

I criteri di esclusione al momento dell'arruolamento includevano: immunizzazione con vaccino anti-pneumococcico 23-valente polisaccaridico (PPV23) ricevuto nell'ultimo anno, la partecipazione o l'intenzione di partecipare a un altro studio clinico e presenza di qualunque malattia/condizione che, all'opinione del medico vaccinatore, potesse interferire con gli obiettivi dello studio.

Ai soggetti arruolati è stato richiesto di segnalare la presenza e l'intensità di una serie di specifiche reazioni locali (dolore, gonfiore e arrossamento) e sistemiche (temperatura

uguale o maggiore di 38,0°C, mal di testa, affaticamento, dolori muscolari e brividi) su un diario clinico, fino a 7 giorni dopo l'immunizzazione. L'insorgenza di reazioni locali e sistemiche dal giorno 7 al giorno 14, insieme con l'insorgenza di eventuali eventi avversi non attesi (AE) fino al giorno 21 post-vaccinazione, sono state registrate nel diario clinico e attivamente monitorate dagli sperimentatori durante il contatto telefonico di follow-up eseguito 21 giorni dopo l'immunizzazione. Gli AE verificatisi entro 30 minuti dalla vaccinazione sono stati direttamente monitorati dai medici investigatori subito dopo l'immunizzazione.

Eventuali condizioni mediche croniche di nuova diagnosi e AE severi (SAE) occorsi nei 6 mesi dopo l'immunizzazione sono state registrate in un secondo diario clinico da compilare da parte dei soggetti vaccinati, fino a 6 mesi dopo l'immunizzazione. Un secondo contatto telefonico è stato pianificato a 6 mesi dalla vaccinazione.

Valutazione dell'efficacia di PCV13 nelle coorti vaccinate tra gli adulti di età ≥ 65 anni in termini di riduzione dell'incidenza di accessi al Pronto Soccorso (PS) per pCAP e VT-CAP

Per il raggiungimento di tale obiettivo è attualmente in corso uno studio di coorte prospettico in quattro Regioni Italiane (Liguria, Regione capofila, Puglia, Sicilia e Veneto) in cui saranno arruolati adulti di età ≥ 65 anni che hanno avuto accesso al Pronto Soccorso degli Ospedali di riferimento con una diagnosi di CAP, confermata clinicamente e radiologicamente. Per la valutazione della Vaccine Effectiveness (VE) saranno considerati i soli soggetti vaccinati e sarà effettuato uno studio caso-controllo, con disegno *test negative*, al contrario tutta la popolazione in studio sarà utilizzata per la valutazione degli obiettivi secondari. In particolare, come casi, saranno considerati i soggetti con diagnosi di CAP (batteriemica e non) confermata clinicamente e

radiologicamente e per i quali sia stata identificata una positività per un sierotipo pneumococcico vaccinale o non vaccinale, attraverso i test di laboratorio; per ciascun caso sarà selezionato un numero specifico di controlli appaiati, a partire dalla comparsa della malattia, selezionati fra i soggetti inclusi nella coorte in studio che presentino una diagnosi di CAP confermata clinicamente e radiologicamente, ma senza identificazione di sierotipi pneumococcici (per la valutazione della VE nei confronti delle pCAP) o con l'identificazione di un sierotipo pneumococcico non vaccinale (per la valutazione della VE nei confronti delle VT-CAP).

CRITERI DI INCLUSIONE:

Per questo studio di coorte prospettico sono reclutati soggetti di sesso maschile o femminile, di età ≥ 65 anni, che hanno effettuato accesso al Pronto Soccorso con diagnosi di CAP confermata clinicamente e radiologicamente e residenti nelle Regioni coinvolte; ad ogni paziente è stato fatto firmare un consenso informato ed è stato somministrato un questionario di tipo anamnestico.

CRITERI DI ESCLUSIONE:

Il soggetto non può essere reclutato se:

- Sviluppa segni clinici e/o sintomi di polmonite dopo essere stato ricoverato in ospedale per almeno 48 ore nelle due settimane precedenti l'arruolamento nello studio;
- se presenta una diagnosi accertata di tubercolosi polmonare attiva;
- se presenta una CAP, ma è stato arruolato nei 30 giorni precedenti;
- se non è residente nelle Regioni coinvolte.

Le procedure dello studio prevedono che tutti i soggetti che abbiano eseguito un accesso al Pronto Soccorso, con un quadro di CAP, saranno identificati e inclusi nello studio, se arruolabili. L'arruolamento avverrà 24 ore al giorno e 7 giorni alla settimana. Dopodichè ai pazienti verrà somministrato un questionario per la raccolta dei seguenti dati:

- dati socio-demografici, clinici, di laboratorio ed altri eventuali dati strumentali
- fattori noti per essere associati con polmonite pneumococcica (uso di antibiotici nel mese precedente)
- il numero e l'età dei componenti familiari
- la storia personale di vaccinazione anti-pneumococcica ed anti-influenzale e la storia di vaccinazione pneumococcica tra i bambini conviventi
- la frequentazione di case di cura per anziani
- la presenza di una malattia di base o condizione cronica come anemia a cellule falciformi o altre emoglobinopatie, infezione da virus dell'immunodeficienza umana (HIV) e/o sindrome da immunodeficienza acquisita (AIDS), malattia reattiva delle vie aeree (asma), uso di steroidi sistemici, malattia neoplastica, malattie polmonari croniche, malattie renali, cardiache, ematologiche ed epatiche, asplenia congenita o funzionale e/o diabete.

Le informazioni demografiche ed epidemiologiche raccolte saranno trasmesse ai Centri partecipanti allo studio e conservate sia in forma cartacea che digitale su apposita piattaforma informatizzata, garantendo la completa anonimizzazione del processo.

Le procedure di laboratorio prevedono che per ogni soggetto arruolato nello studio sia raccolto un campione di urina di almeno 30 ml, il quale verrà sottoposto a due tipi di

test: il primo, effettuato nel nostro laboratorio, è il test immunocromatografico su membrana per la rilevazione dell'antigene pneumococcico solubile nell'urina (BinaxNOW®); il secondo, è il test di rilevazione dell'antigene urinario specifico per sierotipo pneumococcico (SSUAD). Il SSUAD, è un test di proprietà della società Pfizer e sarà eseguito presso la sede aziendale, negli Stati Uniti d'America: per questo, i campioni di urina saranno conservati congelati ad una temperatura di -70°C presso il nostro laboratorio, per poi essere trasportati attraverso corriere specializzato refrigerato e testati presso la sede americana.

I ceppi di *S.Pneumoniae* isolati dai campioni clinici (emocoltura, espettorato, lavaggio bronco alveolare (BAL) e bronco aspirato, liquido pleurico, aspirato tracheale) saranno poi sierotipizzati presso il nostro laboratorio attraverso il test di Quellung, secondo il protocollo validato della procedura.

RISULTATI

Analisi epidemiologica dell'impatto delle infezioni del basso tratto respiratorio (Low Respiratory Tract Infection – LRTI) nell'adulto

La popolazione sorvegliata attraverso il SSS è pari a 431.621 abitanti dell'area metropolitana genovese di età uguale o maggiore di 18 anni. La stratificazione per fasce d'età è la seguente: 152.148 giovani adulti (18-44 anni), 147.885 adulti (45-64 anni), 119.328 anziani (65-84 anni) e 18.260 soggetti di età uguale o maggiore di 85 anni.

Il profilo di rischio della popolazione sorvegliata è stato tracciato attraverso la banca dati del “Progetto Nocchiero”: le malattie metaboliche, incluso il diabete mellito, sono risultate il fattore di rischio più diffuso, seguite dalle malattie cardiovascolari croniche, una storia di cancro e le malattie respiratorie croniche.

L'incidenza cumulativa di accesso al PS per LRTI nella popolazione adulta in relazione a classi d'età di minor ampiezza (5-10 anni), mostra una notevole stabilità del dato nelle cinque stagioni, con variazioni minime nel periodo nei differenti gruppi di età (Figura 1). L'incidenza degli accessi è stabile nei giovani adulti e negli adulti, mentre a partire dalla classe 65-69 anni, e ancor più significativamente dalla classe 70-74 anni, si osserva un incremento dell'incidenza cumulativa di accesso al PS per LRTI.

Il Rischio Relativo (RR) di accesso al PS, in relazione alla classe d'età, mette in luce il significativo aumento del rischio a partire dalla classe 65-69 anni, considerando classe d'età di riferimento quella che comprende gli adulti di età compresa tra 18 e 49 anni.

La presenza di fattori di rischio o co-morbidità gioca un ruolo fondamentale nel determinare l'accesso al PS per LRTI, in particolare con l'aumentare dell'età: la proporzione di accessi senza fattori di rischio scende, infatti, da valori superiori al 75% negli adulti di età inferiore ai 39 anni a minori del 20% nei soggetti over-70.

In Figura 2 sono riportati l'incidenza cumulativa di accesso al PS per LRTI e il rischio relativo (RR) rispetto alla popolazione generale nel periodo 2010/2015 stratificati per fascia d'età e principali fattori di rischio: l'incidenza di accesso aumenta con l'età in maniera più o meno netta a seconda del fattore di rischio considerato e i rischi relativi variano da valori prossimi a 1 fino a circa 20. Le malattie metaboliche, incluso il diabete mellito, non sembrano essere fattori determinanti per l'accesso al PS per LRTI, mostrando un rischio relativo inferiore a 1 in ogni fascia d'età considerata.

Valutazione dell'impatto della campagna vaccinale con PCV13 nell'adulto di età ≥ 70 anni

Per quanto riguarda lo studio cross-over per la valutazione dell'impatto della campagna di vaccinazione con PCV13, sono riportati di seguito i risultati ottenuti dall'analisi degli accessi pre- e post-immunizzazione dei 3782 soggetti vaccinati dal 2010 al 2015, appartenenti alle coorti oggetto di studio (70-75 anni).

In Figura 3 è riportata l'incidenza di accesso al PS per LRTI osservata nel periodo pre- e post-immunizzazione, il dato atteso post-immunizzazione corretto ed il dato atteso previsto in assenza di intervento vaccinale. L'aumento dell'incidenza età-correlata è stato stimato attraverso l'analisi dell'inclinazione della retta di regressione dell'incidenza cumulativa di accesso al PS per LRTI nelle classi di età oggetto di studio: all'aumento di un anno di età corrisponde un incremento di incidenza di accesso superiore a 0,3/10.000 mese-persona di osservazione. Per quanto riguarda il pattern di stagionalità, la correzione si è resa necessaria poiché l'intervento vaccinale è stato concentrato durante l'autunno-inverno 2013-14, periodo di maggior incidenza di accessi.

L'intervento vaccinale ha determinato una riduzione degli accessi al PS per LRTI superiore a 1/10.000 mese-persona di osservazione e, quindi, la frazione prevenuta mediante vaccinazione, corretta per età e stagionalità, è pari a circa il 24,5%.

Valutazione on-field del profilo di tollerabilità e sicurezza di PCV13

Un totale di 871 soggetti (età media: 74,3±0,87; 548 maschi, 62,9% della popolazione) sono stati regolarmente inclusi nello studio.

Nessuna reazione avversa si è verificata entro 30 minuti dalla vaccinazione. La descrizione della comparsa delle reazioni attese al sito di iniezione e le reazioni sistemiche sono illustrate in Tabella 3. Le reazioni locali sono risultate generalmente lievi e di breve durata in tutti i soggetti, mentre quelle di intensità severa sono state rare (meno del 2% dei partecipanti). Solo 5 (2,1%) eventi sono stati riportati come “dolore severo” e 42 (17,6%) sono stati indicati come “dolore moderato”: questi sintomi si sono completamente risolti entro 3 giorni dall’immunizzazione con PCV13. Febbre e altri eventi sistemici si sono generalmente risolti entro pochi giorni dalla vaccinazione.

Per quanto riguarda il verificarsi di AE inattesi, l’incidenza riportata dai soggetti di almeno uno di questi eventi è risultata bassa (52; 6,0%): i più comuni sono stati la rinofaringite e le infezioni del tratto respiratorio superiore (14; 1,6%).

Per quanto riguarda le eventuali condizioni mediche croniche di nuova diagnosi e AE severi (SAE) occorsi nei 6 mesi dopo l’immunizzazione, il follow-up è tuttora in corso.

Ad agosto 2014, 347 (39,8%) soggetti avevano regolarmente completato e riconsegnato al centro coordinatore il secondo diario. Degli unici due SAE registrati, il solo valutato dagli investigatori come correlato alla vaccinazione con PCV13 si è verificato in un partecipante di 75 anni che ha sviluppato una CAP con emocultura positiva per Sp (sierotipo non disponibile), diagnosticata durante un’ospedalizzazione avvenuta in Svizzera nel periodo 25\02\2014- 03\03\2014, con diagnosi all’entrata di febbre (temperatura corporea 38,8°C) e disorientamento transitorio. Questo SAE si è verificato 29 giorni dopo la vaccinazione con PCV13. Il soggetto si è completamente ristabilito.

Valutazione dell'efficacia di PCV13 nelle coorti vaccinate tra gli adulti di età ≥ 65 anni in termini di riduzione dell'incidenza di accessi al Pronto Soccorso (PS) per pCAP e VT-CAP

RISULTATI PRELIMINARI

Il centro di Genova (ad oggi l'unico che ha cominciato l'arruolamento), ha reclutato 30 soggetti con diagnosi di CAP all'ingresso in Pronto Soccorso, due dei quali sono stati esclusi durante la raccolta dati. I restanti 28 soggetti arruolati presentano un'età media di 77 anni con un rapporto maschi/femmine di 1,3:1. Due pazienti sono risultati positivi al BinaxNow per *Streptococcus pneumoniae*. Il primo caso è un paziente maschio di 83 anni, residente a Genova, entrato il 12 Settembre in Pronto Soccorso con diagnosi di Influenza con Polmonite, vaccinato con PPV23 nei 5 anni precedenti e affetto da Bronco Pneumopatia Cronica Ostruttiva, Scompenso Cardiaco e Tumore solido. E' stato dimesso dopo 15 giorni di degenza con esito di guarigione con sequele. Il secondo caso è una paziente femmina di 80 anni, residente a Genova entrata il 01 Ottobre in PS con diagnosi di Polmonite, vaccinata per influenza, ma non vaccinata con PCV13 o PPV23 e affetta da insufficienza renale cronica e diabete.

RISULTATI ATTESI E CONSIDERAZIONI STATISTICHE

Il calcolo delle dimensioni del campione è stato effettuato sulla base delle popolazioni residenti nelle quattro Regioni coinvolte nello studio, che da almeno un anno hanno implementato una campagna di vaccinazione con PCV13 in almeno una coorte di adulti. In particolare, in Liguria gli anziani di età ≥ 65 anni sono 441,193 e i target del programma di vaccinazione con PCV13 sono i soggetti di età compresa tra 70-75 anni, pari a 121,496. In Veneto gli anziani di età ≥ 65 anni sono 1,047,367 ed i target del programma di vaccinazione con PCV13 sono i soggetti di 65 anni pari a 60,671, mentre in Puglia le persone di età ≥ 65 anni sono 816,496 ed i target del programma di vaccinazione con PCV13 sono i soggetti di 65, 70 e 75 anni pari a 126,902. Infine in Sicilia gli anziani di età ≥ 65 anni sono 998,748 ed i target del programma di vaccinazione con PCV13 sono i soggetti di 65 e 70 anni pari a 106,958.

Gli assunti utilizzati per il calcolo del reclutamento sono i seguenti:

il tasso di incidenza per polmonite pneumococcica che è stato stimato pari a 62,9/100.000 soggetti (Merito 2007) e il tasso di incidenza per polmonite pneumococcica batteriemica che è stato stimato pari a 7,8/100.000 soggetti (Merito 2007)

Considerando che il vaccino ha un'Efficacia Vaccinale del 45% sulle VT-CAP e ipotizzando una copertura vaccinale, nelle coorti target di immunizzazione, del 50% e una stima tra 8 e 12% delle VT-CAP tra gli arruolati, per avere dati statisticamente significativi lo studio prevede l'arruolamento di circa 2000 persone, come si desume dalla tabella 1.

Al termine dello studio, con a disposizione tutti i risultati di laboratorio, saranno calcolati i tassi di incidenza annuale di CAP nelle coorti seguite nei tre anni.

Le incidenze saranno calcolate in base alla popolazione residente nel bacino di utenza della zona geografica selezionata. I sierotipi pneumococcici verranno descritti come proporzione di tutti gli isolati; sarà calcolata la proporzione prevenibile con PCV13. Saranno inoltre registrati la copertura vaccinale nella coorte in studio e il tasso di mortalità da tutte le cause a 30 giorni.

L'efficacia del vaccino (VE) sarà calcolata nel modo consueto per gli studi caso-controllo, vale a dire $VE = (1 - \text{odds ratio nei vaccinati}) \times 100\%$.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Le raccomandazioni ufficiali per la vaccinazione pneumococcica negli adulti e anziani ad oggi rimangono molto eterogenee nei Paesi Occidentali, nonostante i numerosi studi e le sostanziali evidenze riguardanti l'impatto significativo della malattia pneumococcica negli anziani e nei gruppi a rischio e la disponibilità di preparati vaccinali utilizzabili come strumenti efficaci di prevenzione. La recente estensione dell'utilizzo di PCV13 ai soggetti adulti e il suo potenziale utilizzo nelle strategie di prevenzione contro Sp, impone la necessità di raccogliere ulteriori dati riguardanti l'epidemiologia della malattia e le prestazioni del preparato vaccinale sul campo nei diversi contesti dove questo è già in uso, anche al fine di fornire ulteriori elementi di prova per la sua raccomandazione universale. Nei paesi nei quali la copertura vaccinale con preparato coniugato nei nuovi nati ha raggiunto valori elevati e costanti nel tempo, si è osservata sia una netta diminuzione delle malattie invasive e non-invasive da pneumococco in fascia pediatrica, sia una riduzione delle malattie invasive, in particolare sepsi e meningiti, negli adulti e negli anziani, soprattutto grazie alla diminuita circolazione di sierotipi pneumococcici maggiormente implicati nell'instaurarsi di questi quadri patologici; tale riduzione negli adulti non è stata però osservata per le patologie non invasive, in particolare per le polmoniti e le infezioni del basso tratto respiratorio. L'utilizzo estensivo di un preparato coniugato anti-pneumococcico può consentire di ridurre significativamente sia l'incidenza di patologia invasiva e non invasiva, sia la colonizzazione faringea da sierotipi contenuti nel vaccino, conducendo, di fatto, a una diminuzione, se non alla scomparsa, della circolazione di questi ultimi. Questo fatto potrebbe, tuttavia, accompagnarsi alla sostituzione della nicchia ecologica da parte di sierotipi non contenuti nel vaccino (fenomeno di "*replacement*" o rimpiazzo), che al momento rappresentano solo una

minima parte dei microrganismi responsabili di patologia pneumococcica invasiva e non invasiva: tale fenomeno è stato osservato dopo l'utilizzo su larga scala del vaccino eptavalente coniugato nei bambini, con l'emergenza del sierotipo 19A (incluso nella composizione di PCV13). Sebbene il dato relativo alla copertura vaccinale raggiunta nelle coorti di adulti considerate nel primo anno di introduzione del vaccino sia limitato, è già stato possibile apprezzare una significativa riduzione del numero e dell'incidenza di accessi al PS per LRTI nella popolazione vaccinata rispetto ai non vaccinati. I risultati ottenuti nell'ambito della presente ricerca sembrano, inoltre, in linea con la dimostrazione dell'efficacia di PCV13 nella prevenzione delle polmoniti sostenute da sierotipi vaccinali, batteriemiche e non batteriemiche, e delle malattie invasive sostenute da sierotipi vaccinali, anche se nell'ambito della stessa sperimentazione clinica non è stato possibile dimostrare l'efficacia di PCV13 nella prevenzione delle polmoniti da tutte le cause [69].

In termini di incidenza di LRTI, il confronto fra i dati ottenuti nella presente ricerca e la letteratura internazionale appare complesso a causa dell'eterogeneità dei disegni di studio, delle popolazioni studiate e delle definizioni di caso utilizzate. Tuttavia i criteri utilizzati per la selezione dei casi nell'ambito del SSS e conseguentemente utilizzate per questo studio consentono di escludere i casi di bronchite acuta e un'analisi effettuata su un sottogruppo di pazienti ha dimostrato che tutti i casi selezionati rientravano nella definizione di caso di CAP [73]. L'alta sensibilità del sistema di sorveglianza ha esitato in un'alta incidenza di LRTI negli adulti di età superiore a 18 e 50 anni (3,3/1.000 anni-persona e 4,6/1.000 anni-persona), nei soggetti anziani (età ≥ 70 anni, $>7/1.000$ anni persona) e molto anziani (età ≥ 85 anni, $>14/1.000$ anni-persona) in confronto ad altri dati pubblicati nella letteratura internazionale. Precedenti studi epidemiologici condotti nella seconda metà dello scorso decennio nel Regno Unito e in Germania in soggetti

adulti hanno riportato, rispettivamente, un tasso di ospedalizzazione pari a 1,1 e 2,8 ogni 1.000 anni-persona [74,75]. Uno studio con *follow-up* di un anno condotto in Ohio, USA, ha stimato un'incidenza di ospedalizzazioni per CAP pari a 2,6 ospedalizzazioni ogni 1.000 anni-persona [76]. Infine, una ricerca condotta in Danimarca fra il 1993 e il 2008 ha riportato, nei soggetti di età superiore a 50 anni, un tasso di ospedalizzazione per polmonite inferiore a 4 casi ogni 1000 anni-persona [77]. In linea con i precedenti dati epidemiologici, l'incidenza di LRTI è risultata fortemente età-correlata, con un aumento lineare negli accessi al PS a partire dalla classe d'età 65-69 anni. In particolare, fra le classi di età 65-69 anni e 80- 84 anni, l'aumento annuale di incidenza è risultato pari a 1 e 1,8 casi ogni 1000 anni-persona in confronto alla classe d'età precedente. Nella classe d'età pari o superiore a 85 anni l'aumento dell'incidenza non appare lineare ma è risultato oltre due volte superiore rispetto alle precedenti classi d'età. Questo quadro è attribuibile sia alla prevalenza dei fattori di rischio che aumenta con l'età sia al peso dei fattori di rischio, il cui *pattern* è differente nelle diverse classi d'età.

L'associazione fra condizioni di co-morbidità e il rischio di LRTI e CAP è stata ampiamente investigata, tuttavia sono disponibili pochi dati sul ruolo giocato dalle condizioni croniche nel favorire l'accesso in PS per LRTI. I pazienti con patologie respiratorie croniche e patologie cardiache croniche hanno mostrato un rischio aumentato di accessi per LRTI con un RR relativo che, rispettivamente, variava fra 2,5 e 8,7 e fra 2,7 e 5. Questi dati risultano marcatamente più elevati rispetto ai rischi di CAP, con o senza ospedalizzazione, registrati in altri studi condotti su categorie analoghe di pazienti. Pazienti affetti da patologie respiratorie croniche, inclusa la broncopneumopatia cronica ostruttiva, bronchite o asma, hanno dimostrato un rischio di polmonite da 2 a 4 volte superiore [78-81]. Precedenti articoli hanno, invece, evidenziato come le patologie cardiovascolari croniche aumentassero il rischio di CAP

sino a tre volte e, ulteriori ricerche confermano l'associazione fra patologia cardiaca cronica (OR aggiustati: 1,63 e 1,66) o scompenso cardiaco (OR aggiustato: 2,19 e 1,37) e il rischio di CAP [78-80,82,83]. A differenza di quanto evidenziato in numerosi altri studi che evidenziavano come il diabete fosse associato a un moderato rischio di CAP [78,84-86], nella nostra ricerca i pazienti affetti da diabete mellito e altre malattie metaboliche hanno mostrato una più bassa incidenza di LRTI rispetto ai pazienti senza potenziali fattori di rischio. Una possibile spiegazione di questo fenomeno potrebbe essere attribuibile al fatto che i pazienti con diabete possano essere, dal punto di vista sanitario, seguiti e trattati in modo migliore rispetto ai pazienti non diabetici. Il *burden* delle LRTI in termini di accessi ospedalieri appare quindi molto elevato, fortemente età-correlato, e associato alla presenza di alcuni fattori di rischio. Al di là dei risultati promettenti ottenuti appena dopo un anno dall'introduzione di PCV13 negli anziani, la disponibilità di questo nuovo vaccino negli anziani e il suo utilizzo in strategie di Sanità Pubblica dovrebbero ottimizzare i benefici dell'immunizzazione e consentirci, nei prossimi anni, di registrare, in termini di prevenzione degli accessi in PS, *performance* ancora migliori. I maggiori limiti della ricerca sono rappresentati dalle prestazioni sub-ottimali dei sistemi di sorveglianza, in termini di sensibilità e specificità nel rilevare i casi di LRTI, e le difficoltà nella stima della prevalenza delle co-morbidità nella popolazione in studio. Tuttavia, il SSS attivo sul territorio ligure ha mostrato sin dal suo avvio un'ottimale sensibilità e specificità consentendo di stimare l'impatto di sindromi Influenza-like Illness (ILI) e LRTI sia durante la stagione pre- e post-pandemica che nelle stagioni successive [87].

Il principale limite degli studi *cross-over* riguarda, invece, il potenziale impatto dell'invecchiamento dei soggetti arruolati sugli esiti misurati: tale limitazione del presente studio è stata in parte corretta attraverso l'analisi dell'aumentato rischio di

accesso al PS per LRTI correlato all'aumento dell'età della popolazione esaminata nel periodo considerato.

Per quanto riguarda il profilo di tollerabilità e sicurezza di PCV13 nella popolazione anziana, si tratta del primo studio osservazionale che ha investigato l'utilizzo di questo preparato vaccinale nella pratica clinica. I risultati della nostra indagine confermano il buon profilo di tollerabilità di PCV13 negli anziani così come precedentemente osservato nelle sperimentazioni cliniche condotte nelle stesse categorie di soggetti [66,67]. In particolare, la proporzione di reazioni “*solicited*” nei 14 giorni successivi all'immunizzazione è risultata inferiore rispetto a quanto riportato nei suddetti *trial* clinici: questo può essere determinato dal disegno dello studio e dai metodi utilizzati per la raccolta dei dati (diari clinici da compilarsi per una settimana dopo l'immunizzazione e telefonata da parte di un professionista sanitario 21 giorni dopo la vaccinazione per valutare la tollerabilità del vaccino nella seconda settimana dopo la vaccinazione). Le reazioni febbrili, frequentemente riportate dopo la somministrazione di PCV13 nell'infanzia, sono risultate meno comuni negli anziani (2,2%). Non sono state riscontrate reazioni immediate successive alla vaccinazione né casi di decesso nei sei mesi di *follow-up* dello studio.

In conclusione, i dati relativi al buon profilo di sicurezza e tollerabilità del vaccino, unitamente agli iniziali effetti del programma di immunizzazione in termini di riduzione degli accessi al PS per LRTI, confermano la bontà delle attuali raccomandazioni della regione Liguria relative alla prevenzione delle malattie da Sp nella popolazione adulta.

Per quanto riguarda lo studio attualmente in corso, le principali criticità riguardano la difficoltà a reperire polmoniti pneumococciche e la bassa copertura vaccinale (intorno al 20%) nelle Regioni coinvolte nello studio, nonostante l'implementazione delle

campagne vaccinali da almeno un anno. Tuttavia, i dati raccolti dallo studio di efficacia sul campo forniranno una solida evidenza scientifica dell'impatto della strategia vaccinale con PCV13 nell'adulto e nell'anziano e consentiranno di ottenere conferme circa la bontà della scelta di utilizzare questo preparato vaccinale, non solo nelle classi di età pediatrica, ma anche negli over 65.

BIBLIOGRAFIA

1. WHO. Pneumococcal Conjugate Vaccine for Childhood Immunisation: Position Paper. Weekly Epidemiological Report 2007;12:93-104.
2. Whitney C, Pilishvili T, Farley MM, et al. Effectiveness of seven-valent pneumococcal conjugate vaccine against invasive pneumococcal disease: a matched case-control study. Lancet 2006;368:1495-502.
3. Whitney CG, Farley MM, Hadler J, et al. Decline in invasive pneumococcal disease after the introduction of protein polysaccharide conjugate vaccine. N Engl J Med 2003;348:1737-46.
4. La Placa M. Principi di Microbiologia Medica. Società Editrice Esculapio, Bologna. 243-246, 1995.
5. Bentley SD, Aanensen DM, Mavroidi A, et al. Genetic analysis of the capsular biosynthetic locus from all 90 pneumococcal serotypes. PLoS Genet 2006;2:e31.
6. Dillard JP, Caimano M, Kelly T, Yother J. Capsules and cassettes: genetic organization of the capsule locus of *Streptococcus pneumoniae*. Dev Biol Stand 1995;85:261-5.
7. Garcia E, Llull D, Lòpez R. Functional organization of the gene cluster involved in the synthesis of the pneumococcal capsule. Int Microbiol 1999;2:169-76.
8. Sørensen UB, Henrichsen J, Chen HC, Szu SC. Covalent linkage between the capsular polysaccharide and the cell wall peptidoglycan of *Streptococcus pneumoniae* revealed by immunochemical methods. Microb Pathog 1990;8:325-34.
9. Hausdorff WP, Bryant J, Kloek C, Paradiso PR, Siber GR. The contribution of specific pneumococcal serogroups to different disease manifestations: implication for conjugate vaccine formulation and use, part II. Clin Infect Dis 2000;30:122-40.
10. Center for Disease Control and prevention (CDC) . Disponibile al link <http://www.cdc.gov/pneumococcal/clinicians/transmission.html> [Ultimo accesso aprile 2015]

11. World Health Organization (WHO). Disponibile al link http://www.who.int/immunization/topics/pneumococcal_disease/en/ [Ultimo accesso aprile 2015]
12. Epidemiology and Prevention of Vaccine-Preventable Diseases. The Pink Book: Course Textbook – 12th Edition Second Printing. May 2012
13. European Center for Disease Control and prevention (ECDC). Annual epidemiological report. Vaccine - preventable disease – invasive bacterial diseases. 2014.
14. Istituto Superiore di Sanità. Rapporto della sorveglianza delle malattie batteriche invasive. 31 Ottobre 2014.
15. Loeb M. Pneumonia in older persons. Clin Infect Dis 2003;37:1335-9.
16. Michelow IC, Olsen K, Lozano J, et al. Epidemiology and clinical characteristic of community-acquired pneumoniae in hospitalized children. Pediatrics 2004;113:701-7.
17. World Health Organization (WHO). Bulletin of the World Health Organisation 2008;86:408-16.
18. Hain TC. Otitis Media and Otitis Externa. Disponibile al sito: <http://www.dizziness-and-balance.com/disorders/unilat/otitis.html>. [Ultimo accesso aprile 2015]
19. van Heerbeek N, Straetemans M, Wiertsema SP, et al. Effect of Combined Pneumococcal Conjugate and Polysaccharide Vaccination on Recurrent Otitis Media With Effusion. Pediatrics 2006;117:603-8.
20. Hart C, Bain J. Child care in general practice. London: Churchill Livingstone, 1989.
21. Teele DW, Klein JO, Rosner B. Epidemiology of otitis media during the first seven years of life in children in greater Boston: a prospective, cohort study. J Infect Dis 1989;160:83-94.
22. Principi N, Marchisio P. Epidemiology of Streptococcus pneumoniae in Italian children. Acta Paediatr Suppl 2000;89:40-3.
23. Bluestone CD, Stephenson JS, Martin LM. Ten-year review of otitis media pathogens. Pediatr Infect Dis J 1992;11:S7-S11.

24. Block SL. Causative pathogens, antibiotic resistance and therapeutic considerations in acute otitis media. *Pediatr Infect Dis J* 1997;16:449-56.
25. Wald ER, Mason EO Jr, Bradley JS, Barson WJ, Kaplan SL. Acute otitis media caused by *Streptococcus pneumoniae* in children's hospitals between 1994 and 1997. *Pediatr Infect Dis J* 2001;20(1):34-9.
26. Grabenstein JD, Klugman KP. A century of pneumococcal vaccination research in humans. *Clin Microbiol Infect* 2012 Oct;18:15-24.
27. Durando P, Alicino C, De Florentiis D, et al. Improving the protection against *Streptococcus pneumoniae* with the new generation 13-valent pneumococcal conjugate vaccine. *J Prev Med Hyg* 2012;53:68-77
28. Alicino C, Barberis I, Orsi A, Durando P. Pneumococcal vaccination strategies in adult population: perspectives with the pneumococcal 13 – valent polysaccharide conjugate vaccine. *Minerva Med* 2014;105:89-97.
29. Icardi G, Sticchi L, Bagnasco A, et al. Pneumococcal vaccination in adults: rationale, state of the art and perspectives. *J Prev Med Hyg* 2012;53:78-84.
30. French N. Use of pneumococcal polysaccharide vaccines: no simple answers. *J Infect* 2003;46:78-86.
31. Shapiro ED, Berg AT, Austrian R, et al. The protective efficacy of polyvalent pneumococcal polysaccharide vaccine. *N Engl J Med* 1991; 325:1453-60.
32. O'Brien KL, Hochman M, Goldblatt D. Combined schedules of pneumococcal conjugate and polysaccharide vaccines: is hyporesponsiveness an issue? *Lancet Infect Dis* 2007;7:597-606.
33. WHO position paper. 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine. *Wkly Epidemiol Rec* 2008;8:373 84.
34. Centers for Disease Control and Prevention (CDC); Advisory Committee on Immunization Practices. Updated recommendations for prevention of invasive

- pneumococcal disease among adults using the 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine (PPSV23). *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2010;59:1102-6.
35. Moberley S, Holden J, Tatham DP, Andrews RM. Vaccines for preventing pneumococcal infection in adults. *Cochrane Database Syst Rev* 2013;1:CD000422.
 36. Walters JA, Smith S, Poole P, Granger RH, Wood-Baker R. Injectable vaccines for preventing pneumococcal infection in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2010;11:CD001390.
 37. de Roux A, Schmöle-Thoma B, Siber GR, et al. Comparison of pneumococcal conjugate polysaccharide and free polysaccharide vaccines in elderly adults: conjugate vaccine elicits improved antibacterial immune responses and immunological memory. *Clin Infect Dis* 2008;46:1015-23.
 38. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Direct and indirect effects of routine vaccination of children with 7-valent pneumococcal conjugate vaccine on incidence of invasive pneumococcal disease – United States, 1998-2003. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2005;54:893-97.
 39. Pilishvili T, Lexau C, Farley M, et al. Sustained reductions in invasive pneumococcal disease in the era of conjugate vaccine. *J Infect Dis* 2010;201:302-41.
 40. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Invasive pneumococcal disease in children 5 years after conjugate vaccine introduction - eight states, 1998-2005. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2008;57:144-8.
 41. Kyaw MH, Lynfield R, Schaffner W, et al. Effect of introduction of the pneumococcal conjugate vaccine on drug-resistant *Streptococcus Pneumoniae*. *N Engl J Med* 2006;354:1455-63.
 42. Stephens DS, Zughaier SM, Whitney CG, et al. Incidence of Macrolide resistance in *Streptococcus Pneumoniae* after introduction of the pneumococcal conjugate vaccine: population based assessment. *Lancet* 2005;365:855-63.

43. Kaplan SL, Mason EO Jr, Wald ER, et al. Decrease of invasive pneumococcal infections in children among 8 children's hospitals in the United States after the introduction of the 7-valent pneumococcal conjugate vaccine. *Pediatrics* 2004;113:443-449.
44. Bettinger JA, Scheifele DW, Kellner JD, et al. The effect of routine vaccination on invasive pneumococcal infections in Canadian children, Immunization Monitoring Program, Active 2000-2007. *Vaccine* 2010;28:2130-6.
45. Kaye P, Andrews N, Slack M, et al. Vaccine effectiveness and indirect protection from pneumococcal conjugate vaccine used in a 2 dose infant priming plus booster schedule in England and Wales. 6th ISPPD 8-12 June 2008, Reykjavik, Iceland (Poster presentation).
46. Vestrheim DF, Løvoll O, Aaberge IS, et al. Effectiveness of a 2+1 dose schedule pneumococcal conjugate vaccination programme on invasive pneumococcal disease among children in Norway. *Vaccine* 2008;26:3277- 81.
47. Lepoutre A, Varon E, Georges S, et al. Impact of infant pneumococcal vaccination on invasive pneumococcal diseases in France, 2001-2006. *Euro Surveil* 2008;13:18962.
48. Harboe ZB, Valentiner-Branth P, Benfield TL, et al. Early effectiveness of heptavalent conjugate pneumococcal vaccination on invasive pneumococcal disease after the introduction in the Danish Childhood Immunization Program. *Vaccine* 2010;28:2642-7.
49. Durando P, Crovari P, Ansaldi F, et al. Universal childhood immunisation against *Streptococcus pneumoniae*: the five-year experience of Liguria Region, Italy. *Vaccine* 2009;27:3459-62.
50. Grijalva CG, Nuorti JP, Arbogast PG, et al. Decline in pneumonia admissions after routine childhood immunisation with pneumococcal conjugate vaccine in the USA: a time-series analysis. *Lancet* 2007;369:1179-86.

51. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Pneumonia hospitalizations among young children before and after introduction of pneumococcal conjugate vaccine-United States, 1997-2006. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2009;58:1-4.
52. Zhou F, Kyaw MH, Shefer A, et al. Health care utilization for pneumonia in young children after routine pneumococcal conjugate vaccine use in the United States. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2007;161:1162-8.
53. Grijalva CG, Poehling KA, Nuorti JP, et al. National impact of universal childhood immunization with Pneumococcal Conjugate Vaccine on outpatient medical care visits in the United States. *Pediatrics* 2006;118:865-873.
54. Zhou F, Shefer A, Kong Y, et al. Trends in acute otitis media-related health care utilization by privately insured young children in United States, 1997- 2004. *Pediatrics* 2008;121:253-60.
55. Poehling KA, Szilagyi PG, Grijalva CG, et al. Reduction of frequent otitis media and pressure-equalizing tube insertions in children after introduction of pneumococcal conjugate vaccine. *Pediatrics* 2007;119:707- 15.
56. Kaplan SL, Barson WJ, Lin PL, et al. Serotype 19A Is the most common serotype causing invasive pneumococcal infections in children. *Pediatrics* 2010;125:429-36.
57. Dortet L, Ploy MC, Poyart C, et al. Emergence of *Streptococcus pneumoniae* of serotype 19A in France: molecular capsular serotyping, antimicrobial susceptibilities, and epidemiology. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2009;65:49-57.
58. Vestrheim DF, Høyby EA, Bergsaker MR, et al. Indirect effect of conjugate pneumococcal vaccination in a 2+1 dose schedule. *Vaccine* 2010;28:2214-21.
59. Resti M, Moriondo M, Cortimiglia M, et al. Community-acquired bacteremic pneumococcal pneumonia in children: diagnosis and serotyping by real time polymerase chain reaction using blood samples. *Clin Infect Dis* 2010;51:1042-9.
60. Ansaldi F, de Florentis D, Canepa P, et al. Epidemiological changes after PCV7 implementation in Italy: perspective for new vaccines. *Hum Vaccin* 2011;7:211-6.

61. Ansaldi F, de Florentiis D, Canepa P, et al. Carriage of *Streptococcus pneumoniae* 7 years after implementation of vaccination program in a population with very high and long-lasting coverage, Italy. *Vaccine* 2012;30:2288-94.
62. Esposito S, Tansey S, Thompson A, et al. Safety and immunogenicity of a 13-valent pneumococcal conjugate vaccine compared to those of a 7-valent pneumococcal conjugate vaccine given as a three-dose series with routine vaccines in healthy infants and toddlers. *Clin Vaccine Immunol* 2010;17:1017-26.
63. Grimprel E, Laudat F, Patterson S, et al. Immunogenicity and safety of a 13-valent pneumococcal conjugate vaccine when given as a toddler dose to children immunized with PCV7 as infants. *Vaccine* 2011;29:9675-83.
64. Jackson LA, Neuzil KM, Nahm MH, et al. Immunogenicity of varying dosages of 7-valent pneumococcal polysaccharideprotein conjugate vaccine in seniors previously vaccinated with 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine. *Vaccine* 2007;25:4029-37.
65. De Roux A, Schmöle-Thoma B, Siber GR, et al. Comparison of pneumococcal conjugate polysaccharide and free polysaccharide vaccines in elderly adults: conjugate vaccine elicits improved antibacterial immune responses and immunological memory. *Clin Infect Dis* 2008;46:1015-23.
66. Jackson LA, Gurtman A, van Cleeff M, et al. Immunogenicity and safety of a 13-valent pneumococcal conjugate vaccine compared to a 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine in pneumococcal vaccine-naïve adults. *Vaccine* 2013;31:3577-84.
67. Jackson LA, Gurtman A, Rice K, et al. Immunogenicity and safety of a 13-valent pneumococcal conjugate vaccine in adults 70 years of age and older previously vaccinated with 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine. *Vaccine* 2013;31:3585-93.

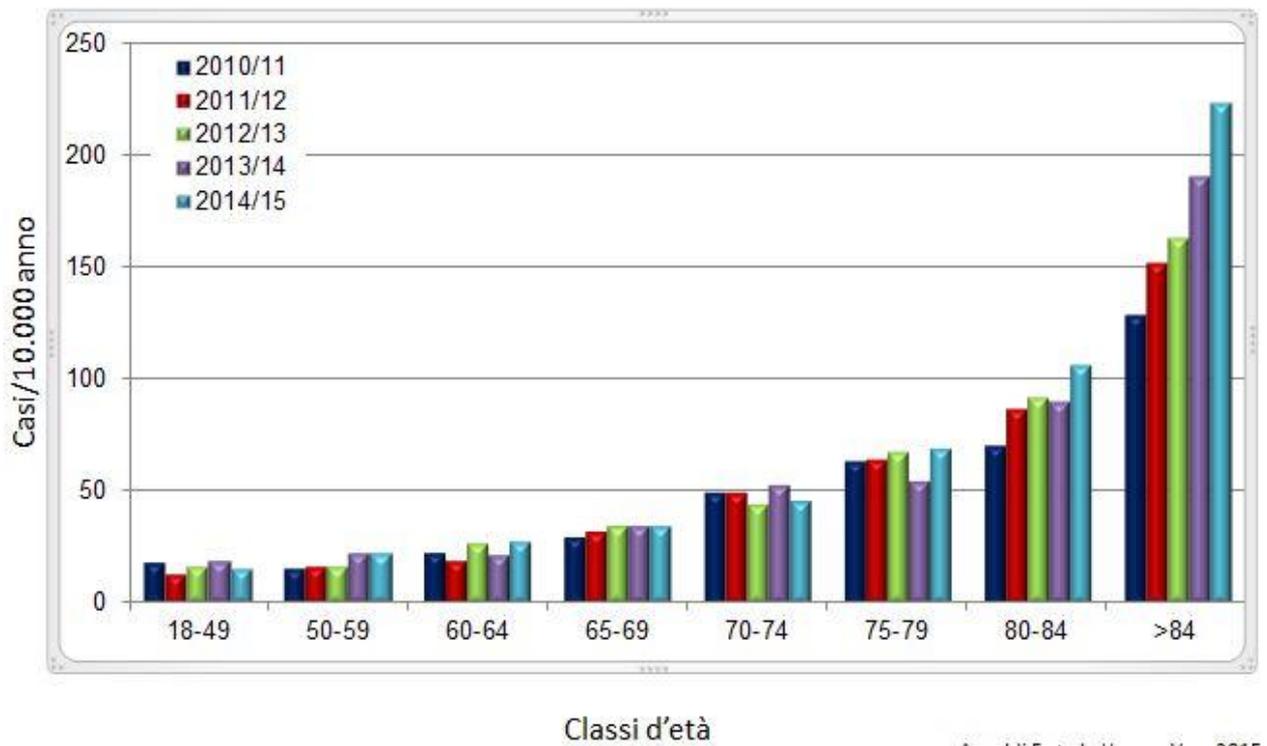
68. The Committee for Medicinal Products for Human Use. European Medicines Agency. Prevenar 13. Pneumococcal polysaccharide conjugate vaccine (13-valent, adsorbed). Disponibile al sito: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Summary_of_opinion/human/001104/WC500112838.pdf [Ultimo accesso aprile 2015].
69. Bonten MJ, Huijts SM, Bolkenbaas M, et al. Polysaccharide conjugate vaccine against pneumococcal pneumonia in adults. *N Engl J Med* 2015;372:1114-25.
70. Ansaldi F, Orsi A, Altomonte F, et al. Syndrome surveillance and molecular epidemiology for early detection and tracing of an outbreak of measles in Liguria, Italy. *J Med Virol* 2009; 81:1807-13.
71. Ansaldi F, Orsi A, Altomonte F, et al. Emergency department syndromic surveillance system for early detection of 5 syndromes: a pilot project in a reference teaching hospital in Genoa, Italy. *J Prev Med Hyg* 2008; 49:131- 5.
72. Agenzia Regionale Sanitaria Liguria. “Progetto Nocchiero”. Disponibile al sito:http://www.arsliguria.it/index.php?option=com_content&view=article&id=691&Itemid=283 [Ultimo accesso aprile 2015].
73. Bartlett JG, Dowell SF, Mandell LA, File Jr TM, Musher DM, Fine MJ. Practice guidelines for the management of community-acquired pneumonia in adults. *Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis* 2000;31:347-82.
74. Ewig S, Birkner N, Strauss R, Schaefer E, Pauletzki J, Bischoff H, et al. New perspectives on community-acquired pneumonia in 388 406 patients. Results from a nationwide mandatory performance measurement programme in healthcare quality. *Thorax* 2009;64:1062-9.
75. Bewick T, Sheppard C, Greenwood S, et al. Serotype prevalence in adults hospitalised with pneumococcal non-invasive community-acquired pneumonia. *Thorax* 2012;67:540-5.

76. Marston BJ, Plouffe JF, File TM Jr, et al. Incidence of community-acquired pneumonia requiring hospitalization. Results of a population-based active surveillance Study in Ohio. The Community-Based Pneumonia Incidence Study Group. *Arch Intern Med* 1997;157:1709-18.
77. Kornum JB, Due KM, Nørgaard M, et al. Alcohol drinking and risk of subsequent hospitalisation with pneumonia. *Eur Respir J* 2012;39:149-55.
78. Vinogradova Y, Coupland C, Hippisley-Cox J. Risk of pneumonia in patients taking statins: population-based nested case-control study. *Br J Gen Pract* 2011;61:e742-8
79. Schlienger RG, Fedson DS, Jick SS, et al. Statins and the risk of pneumonia: a population-based, nested case-control study. *Pharmacotherapy* 2007;27:325-32.
80. Myles PR, Hubbard RB, McKeever TM, et al. Risk of community-acquired pneumonia and the use of statins, ace inhibitors and gastric acid suppressants: a population-based case-control study. *Pharmacoepidemiol Drug Saf* 2009;18:269-75.
81. Teepe J, Grigoryan L, Verheij TJ. Determinants of community-acquired pneumonia in children and young adults in primary care. *Eur Respir J* 2010;35:1113-17.
82. Schnoor M, Klante T, Beckmann M, et al. Risk factors for community-acquired pneumonia in German adults: the impact of children in the household. *Epidemiol Infect* 2007;135:1389-97.
83. van de Garde EM, Hak E, Souverein PC, et al. Statin treatment and reduced risk of pneumonia in patients with diabetes. *Thorax* 2006;61:957- 61
84. Almirall J, Bolibar I, Serra-Prat M, Roig J, et al. New evidence of risk factors for community-acquired pneumonia: a population-based study. *Eur Respir J* 2008;31:1274-84.
85. Rodríguez LA, Ruigómez A, Wallander MA, Johansson S. Acidsuppressive drugs and community-acquired pneumonia. *Epidemiology* 2009;20:800-6.

86. Kornum JB, Thomsen RW, Riis A, et al. Diabetes, glycemic control, and risk of hospitalization with pneumonia: a population-based case-control study. *Diabetes Care* 2008;31:1541-5.
87. De Florentiis D, Parodi V, Orsi A, et al. Impact of influenza during the post-pandemic season: epidemiological picture from syndromic and virological surveillance. *J Prev Med Hyg* 2011;52:1346.
88. Orsi A, Ansaldi F, Durando P, et al; Gruppo di studio ligure sullo pneumococco. Immunization campaign with 13-valent Pneumococcal Conjugate Vaccine in adults in Liguria Region, Italy: one year postintroduction preliminary results. *Epidemiol Prev* 2014;38:66-72.

FIGURE E TABELLE

Figura 1. Incidenza cumulativa annuale di accesso al PS per LRTI nelle stagioni 2010/2011, 2011/2012, 2012/2013, 2013-2014 e 2014-2015 in relazione alla classe d'età (classe d'età di riferimento: 18-49 anni).



Ansaldi F et al., Human Vacc 2015

Figura 2: Rischio relativo (RR) con intervallo di confidenza al 95% di accesso al Pronto Soccorso per LRTI in relazione ai principali fattori di rischio e alla classe d'età.

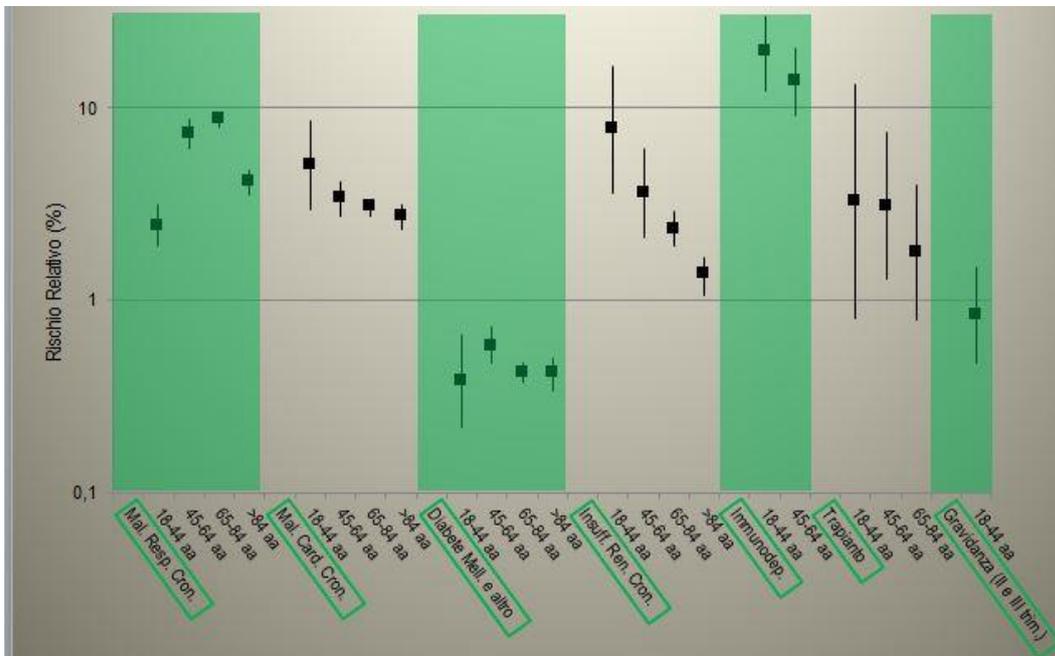


Figura 3: Incidenza di accesso al PS per LRTI osservata nel periodo pre- e post-immunizzazione, il dato atteso post-immunizzazione corretto ed il dato atteso previsto in assenza di intervento vaccinale

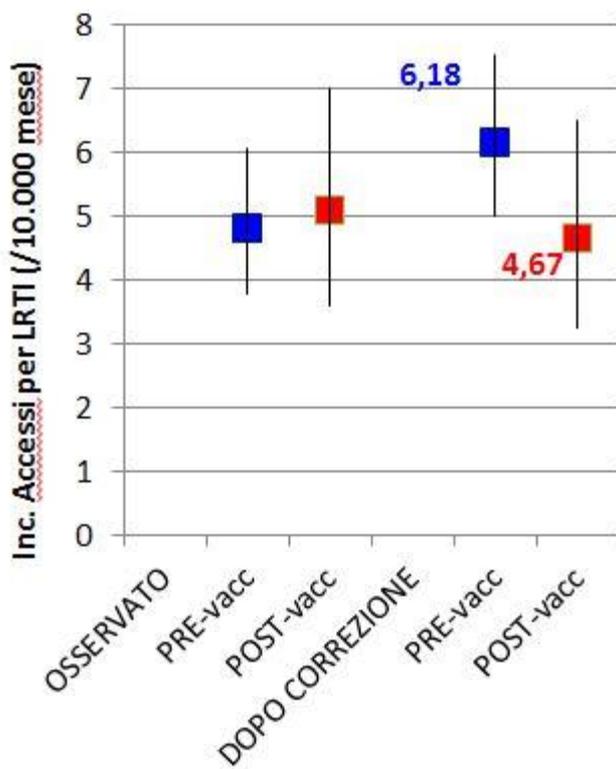


Tabella 1

Tasso di VT-CAP tra le pCAP	8%	9%	10%	11%	12%
VE nei confronti di VT-CAP	45.00%	45.00%	45.00%	45.00%	45.00%
OR	55.00%	55.00%	55.00%	55.00%	55.00%
Copertura vaccinale PCV13	50%	50%	50%	50%	50%
Campione totale (CXR CAP Totale)	1650	1500	1350	1240	1150
Totale Vaccinati	825	750	675	620	575
Totale Non Vaccinati	825	750	675	620	575
Casi stimati di VT CAP tra i vaccinati	38	39	39	39	40
Casi stimati di VT CAP tra i non vaccinati	66	68	68	68	69
Potenza	80%	80%	80%	80%	80%
Numero di Arruolati Finale (percentuale di arruolamento di CXR+ tasso di CAP = 80%)	2063	1875	1688	1550	1438