



## **DIPARTIMENTO DI SCIENZE DELLA SALUTE**

**Tesi di Dottorato in Metodologie Innovative Applicate a  
Malattie trasmissibili e cronico-degenerative: Epidemiologia,  
Statistica, Prevenzione, Management e Nursing**

**XXXII Ciclo**

**Curriculum: Epidemiologia e profilassi di malattie  
prevenibili con vaccinazione**

**La sorveglianza del morbillo per la Regione Liguria negli  
ultimi cinque anni**

Relatore: Chiar.mo Prof. Giancarlo Icardi

Candidato: Dott.ssa Gaia Barisione

## Indice parte compilativa

<b>1. Introduzione</b>	<b>pagina 3</b>
<i>1.1 Descrizione del virus</i>	<b>pagina 3</b>
<i>1.2 Storia, patogenesi ed eliminazione del virus</i>	<b>pagina 3</b>
<i>1.3 Soggetti e fattori di rischio</i>	<b>pagina 4</b>
<i>1.4 Trasmissione del virus e infettività</i>	<b>pagina 4</b>
<b>2. Epidemiologia del morbillo</b>	<b>pagina 4</b>
<b>3. Sorveglianza</b>	<b>pagina 5</b>
<i>3.1 Piani di eradicazione del morbillo e della rosolia congenita (PNEMoRc)</i>	<b>pagina 5</b>
<i>3.2 Sistemi di sorveglianza integrata del morbillo e della rosolia (MoRoNet)</i>	<b>pagina 5</b>
<i>3.3 Definizione di caso</i>	<b>pagina 6</b>
<b>4. Prevenzione vaccinale</b>	<b>pagina 6</b>
<i>4.1 Storia delle prime descrizioni epidemiologiche, primo isolamento virale e del vaccino</i>	<b>pagina 6</b>
<i>4.2 Piano Nazionale Prevenzione Vaccinale (PNPV) 2017-2019</i>	<b>pagina 7</b>
<b>5. Focolai epidemici in Italia e nel mondo</b>	<b>pagina 7</b>
<i>5.1 Principali epidemie di morbillo degli ultimi anni</i>	<b>pagina 8</b>
<i>5.2 Epidemia di morbillo in Italia del 2017</i>	<b>pagina 9</b>
<i>5.3 Casi di morbillo negli operatori sanitari</i>	<b>pagina 9</b>

## Indice parte sperimentale

<b>1. Introduzione e Materiali e metodi</b>	<b>pagina 10</b>
<b>2. Risultati</b>	<b>pagina 10</b>
<b>3. Discussione</b>	<b>pagina 13</b>
<b>4. Conclusioni</b>	<b>pagina 13</b>
<b>5. Bibliografia</b>	<b>pagina 14</b>
<b>6. Ringraziamenti</b>	<b>pagina 16</b>

# Parte compilativa

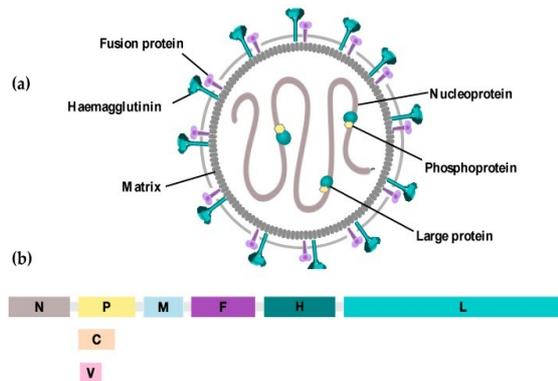
## 1. INTRODUZIONE

### 1.1 Descrizione del virus

Il virus del morbillo appartiene alla famiglia dei Paramixoviridae, genere Morbillivirus.

Il virione ha envelope e presenta una forma sferica con un diametro di 120-250 nm, simmetria elicoidale e superficie irregolare. E' un RNA a singolo strand di senso negativo, non-segmentato di circa 16 kb. Il genoma contiene 6 geni che codificano per 6 proteine: proteina del nucleocapside (N), fosfoproteina (P), proteina della matrice (M), proteina di fusione (F), emoagglutinina (H) e proteina grande (L). Manca di neuroaminidasi. La nucleoproteina (N) si associa a una RNA polimerasi RNA dipendente (RdRp o proteina L) con un cofattore (proteina P) (1).

Il gene P codifica per due proteine non strutturali: proteina V e proteina C, che sono generate da una forma alternativa di trascritto dell'RNA per P. Inoltre viene generato un gradiente trascrizionale per cui gli mRNA sono generati con abbondanza decrescente dalla posizione 3' (N) alla posizione 5' (L). La figura di questo paragrafo (figura 1) mostra una rappresentazione schematica del virione (figura 1a) e del suo genoma (figura 1b).



Il ciclo replicativo inizia con l'entrata dell'RNA virale all'interno della cellula ospite grazie alla proteina F che media la fusione tra l'envelope del virus e la membrana della cellula ospite. Dopo la replicazione e la trascrizione del genoma virale nel citoplasma, il virus si assembla e esce dalla cellula mentre un grosso quantitativo di virus rimane all'interno della cellula.

Le cellule infettate dal virus contengono antigeni virali, mostrano inclusioni nel citoplasma e nei nuclei. Mentre il virus si assembla, le proteine F e H sulla membrana delle cellule inducono una fusione tra le cellule infette e quelle vicine producendo cellule giganti o sincizi (1,2).

### 1.2 Storia, Patogenesi ed eliminazione del virus

La prima descrizione scientifica del morbillo e la sua distinzione dalle altre più importanti malattie esantematiche dell'uomo ovvero il vaiolo e la varicella, è attribuita al medico persiano Ibn al- Razi (Rhazes) 860-932, che ha pubblicato un'opera che in Italiano è "Il libro del vaiolo e del morbillo" (in arabo: Kitab al-fi jadari wa-al-hasbah). Il virus del morbillo è nato come una zoonosi da quello della peste bovina (*bovini peste / rinderpest*) presumibilmente tra il 1100 e il 1200 d.C., un periodo che potrebbe essere stato preceduto da focolai limitati che coinvolgevano un virus non ancora completamente adattato agli esseri umani. Questo concorda con l'affermazione che il morbillo richieda una popolazione suscettibile maggiore di 500.000 individui per sostenere una epidemia, una situazione che si è verificata solo in seguito alla crescita delle città medievali europee.

Ad oggi l'uomo è l'unico serbatoio naturale, non esistono animali portatori.

Dopo il contagio il virus penetra attraverso le mucose respiratorie e la congiuntiva, si replica nelle cellule della rinofaringe e raggiunge i linfonodi dove si moltiplica e si diffonde così per via

sistemica e da origine al decorso della malattia (2). L'incubazione dura circa 10 giorni. La viremia ha un picco in corrispondenza del 12° giorno dopo il contagio e scompare intorno al 20° dopo il contagio. La comparsa delle IgM si verifica intorno al 20° giorno, in corrispondenza infatti della scomparsa della viremia. Il virus viene quindi eliminato per via rinofaringea e per via urinaria. La tipica eruzione maculo-papulosa e le macchie di koplik sulla mucosa orale che si osservano durante il morbillo sono dovute all'interazione tra le cellule endoteliali infettate dal virus e i linfociti T. L'inizio simultaneo del rash cutaneo e la comparsa degli anticorpi in circolo suggerisce un'azione immunitaria citotossica a carico delle cellule infettate dal virus.

Altra caratteristica è che nei casi di alterata funzionalità dei linfociti T, non si osserva alcuna eruzione cutanea e la progressione dell'infezione può portare a polmoniti con esito fatale.

Gli encefalogrammi anormali sono comuni durante il morbillo, suggerendo frequenti invasioni virali del cervello, questo rappresenta la complicazione più rischiosa.

### **1.3 Soggetti e fattori di rischio**

Malnutrizione e immunocompromissioni come in caso di HIV sono fattori predisponenti lo sviluppo di complicazioni severe causate da virus del morbillo. La risposta alle infezioni e lo stato vaccinale sono i fattori principali da valutare per il rischio di malattia. Bambini, insegnanti e operatori sanitari sono soggetti potenzialmente a rischio(3).

### **1.4 Trasmissione del virus e infettività**

Il morbillo è una patologia particolarmente contagiosa per cui rientra tra le patologie da notifica obbligatoria al sistema sanitario nazionale attraverso la Rete dei Laboratori Regionali.

Il contagio avviene per via aerea, con il virus trasportato dalle goccioline di Flugge ovvero le micro gocce di saliva che vengono emesse attraverso il respirare lo starnutire o il tossire, e per contatto diretto o indiretto con i fluidi corporei di una persona malata (saliva, sperma, muco).

Il malato è contagioso da 1-3 giorni prima dell'inizio dei sintomi (e quindi 3-5 giorni prima della comparsa delle manifestazioni cutanee) fino a 7 giorni dopo la comparsa dell'esantema.

Una malattia infettiva continua a circolare fino a che ci sono nella comunità persone suscettibili cioè non vaccinate. L'infettività è misurata da un parametro chiamato R0. Questo indica il numero medio di casi secondari determinati da un caso primitivo, in una popolazione interamente suscettibile. Per il morbillo R0 è uguale a 12-18, cioè in una popolazione interamente suscettibile un caso di morbillo provoca altri 12-18 ammalati. In una popolazione parzialmente suscettibile, cioè in parte vaccinata, il numero di soggetti contagiati da un caso di morbillo, sarà inferiore(4).

Volendo fare un confronto con altre malattie infettive di cui è disponibile il vaccino, l'eradicazione del morbillo è sicuramente più difficile della eradicazione della polio che ha un valore compreso tra 5 e 6 e del vaiolo che aveva un valore tra 2 e 4. Fino a quando la copertura vaccinale non sarà del 92-95% in tutte le coorti di nascita almeno fino ai 15 anni non saremo al sicuro: questo è uno degli obiettivi del Piano Nazionale di Prevenzione Vaccinale.

## **2. EPIDEMIOLOGIA DEL MORBILLO**

Il morbillo è diffuso in tutto il mondo ed è una delle più frequenti febbri eruttive. E' stata descritta una periodicità poliennale anche se la sua incidenza sia diminuita da quando è in uso un vaccino.

Nei climi temperati presenta un tipico andamento stagionale con punte nel periodo inverno-primavera. A causa delle rare ma gravi complicanze, il morbillo è una delle più temute tra le comuni malattie infettive dell'infanzia; nei paesi industrializzati si contano tra le 30 e le 100 morti ogni centomila persone colpite. Le morti si riscontrano più frequentemente nei neonati e nelle persone che presentano una condizione di compromissione del sistema immunitario.

Prima che fosse disponibile un vaccino, il morbillo colpiva il 90% dei bambini al di sotto dei 15 anni di età. L'incidenza dei casi risultava maggiore tra la fine dell'inverno e l'inizio della primavera, e ogni 2-3 anni si verificavano delle riaccensioni epidemiche, che avevano la massima incidenza nei bambini al di sotto dei due anni. Si stima che questa malattia causasse ogni anno più di due milioni di decessi in tutto il mondo, e tra i 15 000 e i 60 000 casi di cecità.

Infatti tra le complicanze più gravi causate dal morbillo vi è la retinite che può causare perdite di vista temporanee o permanenti (5,6,7). I vari Paesi cominciarono a utilizzare il vaccino, metodo preventivo efficace ecosto-effettivo, a partire dagli anni 60 del secolo scorso. Con l'introduzione della vaccinazione di massa, il quadro epidemiologico della malattia è mutato: attualmente nei Paesi ad alta copertura vaccinale il morbillo tende a manifestarsi con piccole epidemie tra gli adolescenti vaccinati, che non hanno completato il ciclo primario e la seconda dose di vaccino. Nelle regioni dove le coperture vaccinali sono ancora insufficienti il morbillo è particolarmente precoce e costituisce ancora oggi una delle principali cause di morte dei bambini tra uno e 4 anni di età; il sovraffollamento e la malnutrizione favoriscono l'insorgenza di questa patologia. Attualmente a causa della scarsa copertura vaccinale l'età di insorgenza della malattia è aumentata.

### **3. SORVEGLIANZA**

#### **3.1 Piani di eradicazione del morbillo e della rosolia congenita (PNEMoRc)**

Una malattia si definisce endemica quando l'agente responsabile è stabilmente presente e circola in una popolazione o in una comunità. In questo caso si manifesta con un numero di casi più o meno elevato ma uniformemente distribuito nel tempo.

In Italia il morbillo è una malattia endemica con sintomatologia simile alla rosolia, pertanto è stato istituito un piano di sorveglianza ad elevata sensibilità e specificità comune alla rosolia congenita al fine di raggiungere l'obiettivo dell'eradicazione della malattia (8,9).

Per il monitoraggio della malattia in Italia è stato istituito un sistema di sorveglianza nazionale (10). In questo contesto, la sorveglianza ha come obiettivi principali quelli di: individuare i casi sporadici e i focolai e confermare attraverso indagini di laboratorio i casi, assicurare una corretta gestione dei casi e dei contatti, capire i motivi per cui i casi e la trasmissione dell'infezione si stanno verificando, identificare i gruppi di popolazione a rischio di trasmissione, attivare rapidamente una risposta di sanità pubblica, monitorare l'incidenza delle malattie ed identificare i cambiamenti nell'epidemiologia delle stesse, pianificare e mettere in atto i programmi di prevenzione, attribuire le risorse, monitorare la circolazione dei genotipi virali.

Dal momento che morbillo e rosolia colpiscono le stesse fasce di età, hanno una sintomatologia simile e possono essere difficili da distinguere su base clinica, la sorveglianza integrata prevede anche che i casi di sospetto morbillo risultati negativi ai test di conferma vengano testati per rosolia e che viceversa, i casi di sospetta rosolia risultati negativi ai test di conferma vengano testati per morbillo. Attualmente il sistema PNEMoRc 2019-2023 (Piano nazionale per l'eliminazione del morbillo e della rosolia congenita) si pone i seguenti obiettivi:

eliminare il morbillo endemico (incidenza <1 caso di morbillo/1.000.000 popolazione), eliminare la rosolia endemica (incidenza <1 caso di rosolia/1.000.000 popolazione), mantenere l'incidenza della rosolia congenita a meno di 1 caso per 100.000 nati vivi.

Inoltre gli obiettivi specifici previsti da PNEMoRc sono: raggiungere e mantenere una copertura vaccinale  $\geq 95\%$  per la prima dose di vaccino contro il morbillo e la rosolia entro i 24 mesi di vita e per la seconda dose a 5-6 anni, a livello nazionale, regionale e di ASL e  $\geq 90\%$  in tutti i distretti, attraverso l'uso del vaccino MPR o MPRV che consente di perseguire anche l'obiettivo di controllo della parotite; aumentare la copertura vaccinale negli adolescenti e negli adulti suscettibili attraverso la realizzazione di iniziative vaccinali supplementari; aumentare la copertura vaccinale nei soggetti a rischio e a particolari gruppi, di qualsiasi età, con peculiare attenzione per: operatori sanitari e scolastici, militari, gruppi "difficili da raggiungere" quali i nomadi e alcuni gruppi etnici, attraverso l'attuazione di azioni efficaci (9).

#### **3.2 Sistemi di sorveglianza integrata del morbillo e della rosolia (MoRoNet)**

Il Sistema Nazionale di Sorveglianza Integrata del Morbillo e della Rosolia è stato istituito a febbraio 2013 (con inserimento retroattivo dei casi, nella piattaforma Web, a partire dal 01/01/2013) per rafforzare la sorveglianza del morbillo e della rosolia postnatale, malattie per cui esistono

obiettivi di eliminazione nella Regione Europea dell'Organizzazione Mondiale della Sanità(OMS). Dalla sua introduzione, la sorveglianza integrata ha permesso di individuare più tempestivamente i casi sporadici di morbillo e di rosolia e i focolai, monitorare l'incidenza delle malattie e identificare i gruppi di popolazione maggiormente a rischio, si parla di sistema "early warning".

Inoltre, nel 2017 è stata istituita una rete nazionale di laboratori di riferimento regionali per morbillo e rosolia (denominata MoRoNET), per garantire che la conferma di laboratorio dei casi e la genotipizzazione dei casi e dei focolai siano eseguite in un laboratorio accreditato, come prescritto dall'OMS(10) . La rete è coordinata dal Laboratorio di Riferimento Nazionale per morbillo e rosolia del Dipartimento Malattie Infettive dell'ISS. Il 12 Novembre del 2018, è stata emanata la Circolare "Aggiornamento del sistema di sorveglianza integrata del morbillo e della rosolia" per introdurre alcuni aggiornamenti nel flusso di notifica e per le modalità di raccolta dei campioni al fine di rendere la sorveglianza ancora più idonea al raggiungimento degli obiettivi di eliminazione.

### **3.3 Definizione di caso**

Al fine di confermare i casi positivi di morbillo in ambito di sorveglianza, la Commissione Europea propone i criteri che riporto di seguito.

**Criteri clinici:** qualsiasi persona che presenti febbre, esantema maculo-papulare e almeno una delle manifestazioni tra tosse, coriza (rinite) e congiuntivite.

**Criteri di laboratorio:** deve essere messo in atto almeno uno dei criteri seguenti:

isolamento del virus del morbillo a partire da un campione clinico; identificazione dell'acido nucleico del virus del morbillo in un campione clinico; i risultati di laboratorio vanno interpretati sulla base dello stato vaccinale del soggetto. In caso di vaccinazione recente è necessario ricercare il virus selvaggio.

**Criteri epidemiologici:** mediante trasmissione interumana, quindi tiene conto dei casi-contatto.

Riporto di seguito le definizioni della Commissione Europea per la classificazione di morbillo e rosolia che sono state pubblicate il 12 Novembre 2018 tramite una circolare del Ministero della Salute.

**Caso possibile:** qualsiasi persona che soddisfi i criteri clinici.

**Caso probabile:** qualsiasi persona che soddisfi i criteri clinici e presenti una correlazione epidemiologica con un caso già confermato.

**Caso confermato:** un caso viene considerato confermato quando la persona soddisfa i criteri clinici e di laboratorio e non è stata vaccinata di recente (da 6 giorni a 6 settimane prima della comparsa dell'esantema).

## **4. PREVENZIONE VACCINALE**

La trasmissione endemica di questa malattia continua nonostante la vaccinazione. Inoltre il morbillo rimane una delle maggiori cause di mortalità infantile nel mondo, con una stima di più di 100.000 casi fatali ogni anno. Il sistema di sorveglianza WHO si pone l'obiettivo di eliminare la trasmissione endemica mantenendo alti i livelli delle vaccinazioni e implementando il sistema di sorveglianza in particolar modo nell'ambito del WHO Global Measles and Rubella laboratory Network (GMRLN). E' problematica la copertura vaccinale per morbillo-parotite-rosolia (MPR), che, nonostante il lancio, nel 2003 del Piano nazionale di eliminazione del Morbillo e della Rosolia congenita, è ancora inferiore al 95%, soglia critica necessaria a bloccare la circolazione del virus e, quindi, a raggiungere l'obiettivo di eliminazione che era previsto già per il 2015 nella Regione Europea dell'OMS. Dal 2013 si sta registrando un progressivo calo della copertura vaccinale, con il rischio di focolai epidemici di grosse dimensioni per malattie attualmente sotto controllo, e addirittura di ricomparsa di malattie non più circolanti nel nostro Paese (11,12).

### **4.1 Storia delle prime descrizioni epidemiologiche, primo isolamento virale e del vaccino**

La prima vera descrizione di un'epidemia risale al 1846 quando il medico danese Peter Panum ne descrisse con estrema precisione le caratteristiche epidemiologiche e ne confermò la contagiosità, dimostrando che l'infezione determinava un'immunità permanente.

I primi a isolare con successo il virus del morbillo furono gli studiosi Enders e Peebles nel 1954, utilizzando colture su tessuti renali di uomo e di scimmia. Nel 1963, grazie all'utilizzo dei tessuti di embrione di pollo, venne registrato il primo vaccino sperimentale: da quel momento in poi sono stati effettuati numerosi studi volti alla produzione di un vaccino efficace. Negli Stati Uniti dal 1963 al 1967 è stato utilizzato un vaccino derivato dal ceppo Edmonston, il primo ad esser stato sperimentato sull'uomo, dopo inattivazione; l'uso di questo vaccino venne sospeso quando si verificò che aumentava il rischio di morbillo atipico e sviluppava un'immunità di breve durata. I vaccini attualmente usati in tutto il mondo sono i vaccini viventi attenuati: rispetto a quelli inattivati, che ormai sono stati abbandonati, garantiscono una efficacia maggiore.

#### **4.2 Piano Nazionale Vaccinale 2017-2019**

Al momento non esiste una terapia specifica del morbillo, a parte l'uso di antipiretici per abbassare la febbre e terapie specifiche per il trattamento di eventuali complicanze.

Il vaccino vivo attenuato ha un'efficacia > 95% e conferisce immunità a vita. La vaccinazione inoltre può prevenire lo sviluppo della malattia se somministrata entro 72 ore in persone non immuni venute a contatto con malati di morbillo.

Al momento della pubblicazione del PNPV 2017-2019 il vaccino MPR non era obbligatorio ma la legge 119/2017 ha tuttavia introdotto l'obbligo vaccinale per 10 vaccini tra cui il morbillo(9).

Il PNPV 2017-2019 infatti prevede il Vaccino anti Morbillo-Parotite-Rosolia secondo il seguente calendario vaccinale:

MPRV = Vaccino tetravalente per morbillo, parotite, rosolia e varicella

1 dose al 13° e 1 dose al 15° mese (ad almeno 2 settimane di distanza) + 1 richiamo al 6° anno  
Oppure

MPR+V dose al 13° e 1 dose al 15° mese + 1 richiamo al 6° anno .

Essendo il vaccino MPR un vaccino vivo attenuato, dopo la vaccinazione possono verificarsi sintomi lievi come esantema o febbre in circa 3-5 individui su 100 vaccinati.

In assenza di accettabili evidenze di immunità verso anche una sola delle tre patologie incluse nel vaccino, si raccomanda la vaccinazione, anche in età adulta, dei soggetti affetti dalle seguenti condizioni patologiche: immunodepressione con conta dei linfociti CD4 $\geq$  200/mL , infezioni da HIV con conta dei linfociti T CD4+  $\geq$  200/mL , diabete, malattie polmonari croniche, alcoolismo cronico, asplenia anatomica o funzionale e candidati alla splenectomia, deficienza dei fattori terminali del complemento, malattie epatiche croniche gravi, insufficienza renale/surrenalica cronica, soggetti riceventi fattori della coagulazione concentrati, soggetti conviventi con soggetti affetti dalle patologie sopraelencate.

Le categorie di lavoratori per cui sono indicate specifiche vaccinazioni sono gli operatori sanitari.

Un adeguato intervento di immunizzazione è fondamentale per la prevenzione ed il controllo delle infezioni (anti-epatite B, anti-influenzale, anti-morbillo, parotite, rosolia (MPR), anti-varicella, anti-pertosse). Infatti negli ultimi due anni si sono registrati focolai epidemici a carico degli operatori sanitari (13). Nella maggior parte dei casi, l'immunizzazione attiva riveste un ruolo non soltanto di protezione del singolo operatore, ma soprattutto di garanzia nei confronti dei pazienti, ai quali l'operatore potrebbe trasmettere l'infezione determinando gravi danni e persino casi mortali.

### **5. FOCOLAI EPIDEMICI IN ITALIA E NEL MONDO**

La riduzione delle coperture vaccinali comporta un accumulo di persone suscettibili che, per malattie ancora endemiche (come morbillo, rosolia e pertosse), rappresenta un rischio concreto di estesi focolai epidemici. Secondo l'UNICEF (che prende parte alla lotta sanitaria mondiale per morbillo e rosolia) e l'OMS, negli ultimi 10 anni la copertura vaccinale è rimasta stagnante, creando condizioni favorevoli per le attuali epidemie. Inoltre negli ultimi due anni si sono registrati focolai epidemici a carico degli operatori sanitari, come per esempio in Italia in particolare nella Regione Liguria (13).

Secondo i dati più aggiornati a livello globale, solo l'86% dei bambini hanno ricevuto la prima dose

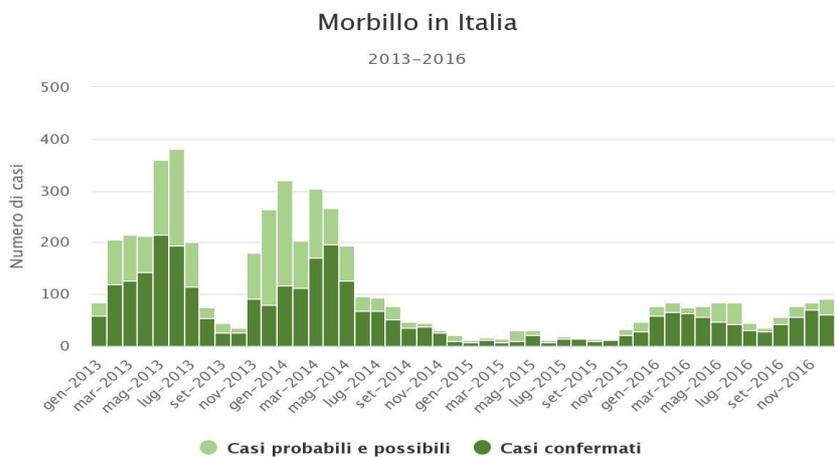
di vaccino entro i 24 mesi dalla nascita, e meno del 70% la seconda dose raccomandata, ben al di sotto del 95% necessario per assicurare la copertura dei bambini immunodepressi (tramite il cosiddetto "effetto gregge") e prevenire focolai epidemici. Inoltre, per quanto riguarda il 2019, considerando i 413.000 casi accertati dall'OMS nei primi 11 mesi dell'anno, a cui si aggiungono i 250.000 registrati nella sola Repubblica Democratica del Congo, si giunge alla conclusione che nei primi 10 mesi e mezzo del 2019, a livello globale, i casi di morbillo sono triplicati rispetto al 2018. Per quanto riguarda l'Italia, come descritto di seguito, l'anno 2019 ha registrato una lieve diminuzione dei casi confermati rispetto al 2018 e agli anni precedenti.

Per quanto riguarda la sorveglianza epidemiologica per il morbillo e altre malattie infettive, per il periodo fine 2019 – inizio 2020, dobbiamo tenere presente che, a causa della pandemia causata dal virus SARS-COV-2 presente in Italia da Gennaio 2020 e la conseguente situazione di emergenza del servizio sanitario a livello mondiale, è stato deciso di interrompere o modificare temporaneamente i calendari di somministrazione per alcune vaccinazioni tra cui quelle per il morbillo. Di conseguenza a queste decisioni i dati di sorveglianza epidemiologica per il 2020 saranno influenzati dall'emergenza contingente (12).

### 5.1 Principali epidemie di morbillo nel mondo degli ultimi anni:

Anni 2013-2016: tra il 1 aprile 2012 e il 31 marzo 2013, 29 Paesi dell'Unione europea (Ue) e dello Spazio economico europeo (See) più la Croazia, hanno segnalato 8127 casi di morbillo.

In particolare in Italia sono stati segnalati 8,6 casi/1 milione, di seguito una tabella con i casi Italiani probabili, possibili e confermati nel periodo 2013-2016 (5). Come mostrato nel grafico sottostante, considerando solo i casi confermati Italiani, si nota una notevole diminuzione del numero di casi per l'anno 2015 e un leggero aumento per il 2016 (728 casi confermati) che comunque non raggiunge la numerosità del 2013 (2258 casi) (5,6).



Anno 2017: nel periodo dal 1 gennaio al 31 dicembre 2017 sono stati segnalati al sistema di sorveglianza integrata morbillo-rosolia 5.407 casi di morbillo, ponendo l'Italia al secondo posto per numero di casi segnalati nell'anno nell'intera Regione Europea dell'OMS. In Grecia è stata segnalata un'epidemia con 968 casi. In Italia il picco è stato raggiunto nel mese di marzo 2017, con 976 casi segnalati (5,6).

Anno 2018: nel periodo dal 1 gennaio al 31 dicembre 2018 otto paesi hanno notificato oltre 2000 casi ciascuno, fra cui Ucraina (n=53218), Serbia (n=5076), Israele (n=3140), Francia (n=2913), Italia (n=2686), Federazione Russa (n=2256), Georgia (n=2203) e Grecia (n=2193).

In Italia quindi i casi totali segnalati sono stati 2686 e le caratteristiche e la distribuzione per fascia di età dei casi sono simili a quanto riportato per il 2017: età mediana pari a 25 anni e incidenza più elevata nei bambini sotto l'anno di età; si sono verificati 8 decessi di cui sette persone adulte (età 25-75 anni) e un bambino di 10 mesi di età (5,6).

Anno 2019: alla data del 28 marzo 2019, la regione europea dell'OMS ha segnalato in totale 83540 casi di morbillo e 74 decessi correlate per il 2018. In Repubblica Democratica del Congo (Africa) (20.000 casi con 4000 morti di cui il 90% bambini sotto i 5 anni di età) (5,6).

Per quanto riguarda gli aggiornamenti più recenti a livello italiano per il 2019, i dati nazionali della Sorveglianza Integrata del Morbillo e della Rosolia, raccolti dall'Istituto Superiore di Sanità dal 1 gennaio al 31 ottobre 2019, evidenziano 1605 casi di morbillo (di cui 7 nel mese di ottobre) e 19 casi di rosolia (nessuno nel mese di ottobre) (6). Rispetto ai casi di morbillo (età mediana di 30 anni), tutte le Regioni hanno segnalato casi nel periodo considerato ma il 58% si è verificato in Lazio e Lombardia. Sono stati conteggiati 168 casi in bambini sotto i 5 anni di età.

L'86% dei casi non era vaccinato al momento del contagio e il 31% ha manifestato almeno una complicanza. Inoltre, sono stati segnalati 94 casi tra operatori sanitari e 43 casi tra operatori scolastici. Da questi dati si evince che a livello nazionale la copertura vaccinale nel 2019 non era ancora a livello ottimale (5,6).

## **5.2 Epidemia di morbillo in Italia del 2017**

Per quanto riguarda la recente epidemia di morbillo che ha interessato l'Italia nel 2017, riporto di seguito i dati raccolti dalla piattaforma di sorveglianza MoRoNet(10).

Dal 1 Gennaio al 31 Dicembre 2017 sono stati segnalati 4.991 casi di morbillo da 21 Regioni, inclusi 4 decessi. Il 90% dei casi è stato segnalato da otto Regioni: Lazio (n=1.699), Lombardia (n=787), Piemonte (n=629), Sicilia (n=425), Toscana (n=370), Veneto (n=288), Abruzzo (n=173) e Campania (n=108). La regione Lazio ha riportato il tasso d'incidenza più elevato (28,8 casi/100.000 abitanti), seguita dal Piemonte (14,3/100.000) e dall'Abruzzo (13,1/100.000). Il 79% dei casi è stato confermato in laboratorio.

Il 95% dei casi era non vaccinato o vaccinato con una sola dose. Il 35,8% dei casi (1.786/4.991) ha riportato almeno una complicanza. La complicanza più frequente è stata la diarrea, riportata in 793 casi (15,9%). Sono stati segnalati 378 casi di polmonite (7,6%) e 2 casi di encefalite. Altre complicanze riportate includono casi di stomatite (730 casi), cheratocongiuntivite (496 casi) ed epatite (444 casi). Sono stati segnalati quattro decessi, di cui tre bambini sotto i 10 anni di età (rispettivamente 1, 6 e 9 anni) e una persona di 41 anni, tutti non vaccinati. In tutti i casi erano presenti altre patologie di base e la causa del decesso è stata insufficienza respiratoria (5,6,7).

Per quanto riguarda la Liguria abbiamo assistito ad un outbreak in Imperia tra novembre 2017 e gennaio 2018 (13,14).

## **5.3 Casi di morbillo negli operatori sanitari**

Nel periodo Gennaio 2017- Giugno 2018 in Italia sono stati notificati più di 7000 casi di morbillo di cui 409 in operatori sanitari, la maggior parte dei quali non era vaccinato. Il focolaio che ha poi interessato l'Italia occidentale ha avuto origine dalla ASL Imperiese tra Novembre 2017 e Gennaio 2018 (13). Per la ASL di Imperia la diagnostica molecolare effettuata nel laboratorio di riferimento per la Regione Liguria, tramite il sequenziamento del gene NP, ha identificato che un solo genotipo

circolante è stato responsabile del focolaio: il genotipo B3. Ricordiamo che il genotipo B3 è stato circolante anche in precedenti stagioni epidemiologiche per esempio ricordiamo nell'anno 2014, anno in cui ha circolato con diverse varianti (13,14,15).

## PARTE SPERIMENTALE

### 1. INTRODUZIONE E MATERIALI E METODI

Il laboratorio dell'UO Igiene dell'Ospedale Policlinico San Martino IRCCS, Università di Genova, raccoglie urine e tampone faringeo di pazienti con probabile o possibile morbillo, i casi da confermare e notificare su piattaforma MoRoNet quindi vengono analizzati come segue: estrazione degli acidi nucleici, amplificazione e sequenziamento. Descrivo i materiali e metodi come segue.

**Estrazione degli acidi nucleici:** l'estrazione del materiale genetico viene effettuata tramite estrazione automatizzata con MagCore con kit *MagCore®* Viral Nucleic Acid Extraction, partendo da 200 ul di materiale (urine o materiale da tampone faringeo) ed eluendo l'acido nucleico virale in 100ul finali.

**Amplificazione NP virale:** per l'amplificazione del gene di interesse utilizziamo una real-time RT-PCR (Progenie Molecular Kit Real Cyler Sara-UX) con primers e sonda diretti verso la nucleoproteina virale (NP) per il rilevamento del genoma virale.

**Sequenziamento gene NP:** I campioni risultati positivi sono sottoposti a test molecolare end-point PCR e a successivo sequenziamento di 450 bp del gene NP per la determinazione del genotipo. Per il sequenziamento è stato utilizzato il sequenziatore che utilizza la metodica Sanger (3130-Avant Genetic Analyzer, Life Technologies, NY,USA).

**Analisi della sequenza:** L'analisi delle sequenze ottenute è stata effettuata attraverso il software SeqScape3. Ottenuta la sequenza è possibile determinare il genotipo del virus circolante e confrontarlo con altre sequenze di riferimento disponibili o con altri casi di morbillo.

Questa informazione si ottiene costruendo un albero filogenetico con programmi bioinformatici di allineamento di sequenze e analisi di omologia tra sequenze. Graficamente otteniamo la "somiglianza" o la "differenza" tra sequenze di uno stesso virus di diversi pazienti. L'analisi filogenetica è stata eseguita utilizzando software di allineamento di sequenze (software MEGA) e di analisi di omologia tra le sequenze ottenute (BLAST *The Basic Local Alignment Search Tool*-NCBI) e le sequenze di riferimento presenti in letteratura e raccomandate dal WHO.

Per nominare la sequenza si devono seguire le indicazioni fornite ai laboratori di riferimento regionali MoRoNet (10). Accedendo al sito MoRoNet si inserisce la sequenza ottenuta e si forniscono le indicazioni relative ai pazienti e sullo stato vaccinale, il sistema genera in automatico un ID della sequenza come da linee guida OMS. Viene creata automaticamente una nomenclatura che riporta le indicazioni su: tipo di campione (se campione clinico o isolato), provincia di isolamento, paese di isolamento, settimana epidemiologica, anno di isolamento, numero di sequenza ottenuta nella settimana epidemiologica, genotipo. *Es. Mvs/LaSpezia.ITA/21.19/2[B3]*

Le caratteristiche demografiche e cliniche dei casi di morbillo di cui otteniamo la sequenza sono archiviate sulla piattaforma online dell'Istituto Superiore di Sanità.

### 2. RISULTATI

Nel laboratorio di riferimento della Regione Liguria nel periodo 2015-2019 abbiamo raccolto 145 casi di morbillo da confermare, di cui 79 casi sono stati confermati positivi. La media dell'età sul periodo è risultata essere 27 . I dati sono riassunti e mostrati nella tabella 1.

Suddividendo i casi totali pervenuti per anno notiamo che il maggior numero di casi positivi è stato riscontrato nel periodo 2017-2018 (grafico 1). Infatti abbiamo riscontrato la presenza dei focolai epidemici nella provincia di Imperia tra la fine 2017 e l' 2018. I risultati dei test di caratterizzazione molecolare, come si mostra con l'analisi filogenetica con albero costruito con metodo neighbor joining (figura 2), hanno permesso di identificare nei campioni raccolti nel 2018 un'unica variante

di genotipo B3 circolante, mentre nel 2019 si è osservata la circolazione di diverse varianti appartenenti al genotipo D8 clade Manchester.UNK/3.

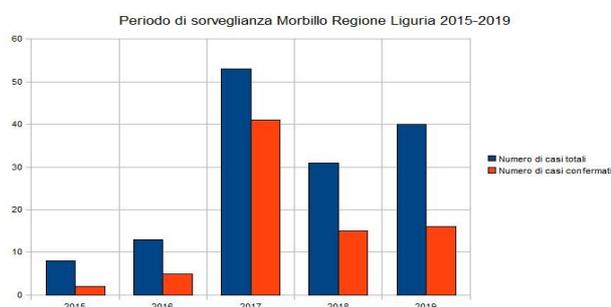
Precedentemente le stagioni epidemiologiche sono state caratterizzate dalla circolazione della variante B3 per esempio nel 2014, anno in cui il virus circolava con diverse varianti (14).

Si conclude quindi considerando attualmente una alternanza quasi annuale delle varianti circolanti di virus del morbillo.

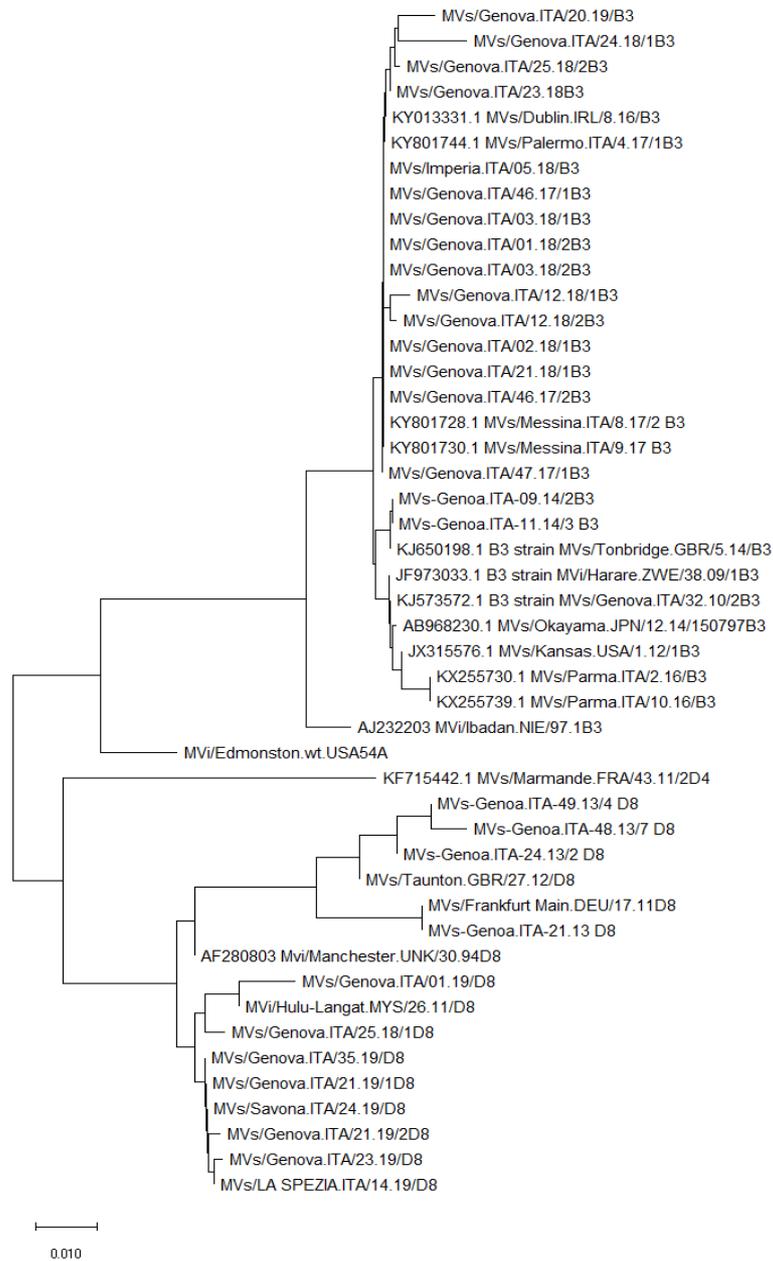
**TABELLA 1: Descrizione dei casi pervenuti al laboratorio per la sorveglianza Regione Liguria negli ultimi cinque anni (periodo 2015-2019).**

Anno di sorveglianza	Casi totali	Positivi	Negativi	Età media ± dev.st. età	Età mediana
2015	8	2 (1 maschio, 1 femmina)	6	15 anni ± 15	10 anni
2016	13	5 (1 maschio, 4 femmine)	8	32 anni ± 15	35 anni
2017	53	41 (18 maschi, 23 femmine)	12	22 anni ± 18	17 anni
2018	31	15 (8 maschi, 7 femmine)	16	32 anni ± 18	33 anni
2019	40	16 (6 maschi, 10 femmine)	24	33 anni ± 16	28 anni

**GRAFICO 1 : Casi di morbillo pervenuti al laboratorio suddivisi per anno di sorveglianza nel periodo 2015-2019.**



**FIGURA 2: Albero filogenetico Neighbour-joining costruito dall'analisi del gene NP dei virus del morbillo identificati presso il laboratorio di riferimento per la Regione Liguria. I dati illustati si riferiscono al periodo 2018-2019.**



### 3. DISCUSSIONE

Nell'ultimo quinquennio il virus del morbillo è circolato in Italia e ha inoltre causato epidemie con focolai di infezione individuati anche tra operatori sanitari. Ciò è dovuto principalmente alle coperture vaccinali insufficienti nel corso degli anni, questo ha portato all'aumento del numero di individui presenti nella popolazione suscettibili all'infezione. Le adesioni alla prima e alla seconda dose di MPR sono in aumento ma ancora inferiori al target del 95% e con una rilevante variabilità tra regioni italiane. Le fasce d'età più colpite dall'infezione sono quelle dei lattanti nel 1° anno di vita, i bambini da 1 a 4 anni, gli adolescenti e giovani adulti (15-39 anni). I numerosi focolai nosocomiali recenti come quello che ha interessato la ASL Imperiese evidenziano il problema della bassa copertura vaccinale tra gli operatori sanitari.

Per quanto riguarda la sorveglianza per l'intera Regione Liguria negli ultimi 5 anni possiamo confermare che l'andamento epidemiologico del morbillo ha rispecchiato l'andamento Italiano ed Europeo dovuto alla circolazione del virus. Grazie alla diagnostica molecolare early warning è stato possibile determinare che i genotipi circolanti prevalenti sono stati il D8 per l'anno 2019, e il B3 tra il 2015 e il 2018, con la cocircolazione in casi sporadici di D4 e H1 per l'anno 2015.

L'anno in cui sono stati notificati più casi al Sistema sanitario Nazionale, tramite piattaforma MoRoNet, è stato il 2017, anno in cui appunto si è verificato il focolaio imperiese tra gli operatori sanitari. Successivamente nell'anno 2018 si è registrato un lieve decremento nel numero di casi che si è mantenuto abbastanza stabile per l'anno 2019 con genotipo.

### 4. CONCLUSIONI

In conclusione, come secondo PNEMoRc 2019-2023, le attività dei precedenti piani di eliminazione non sono state messe pienamente in atto e il morbillo continua a circolare in Italia e a causare epidemie. Negli ultimi anni l'incidenza più elevata è stata registrata nei bambini sotto l'anno di età, troppo piccoli per essere vaccinati e che dipendono dall'immunità di gruppo per essere protetti contro il morbillo e nella fascia 1-5 anni proprio in virtù del mancato raggiungimento della soglia del 95% per due dosi di vaccino(5,6). Inoltre l'elevata età mediana dei casi indica che esistono ampie sacche di giovani adulti suscettibili, mentre i casi tra gli operatori sanitari evidenziano il problema della bassa copertura vaccinale tra questi ultimi. E' infine evidente la necessità di individuare nel Piano nazionale per l'eliminazione del morbillo e della rosolia congenita nuove azioni e ulteriori allenaze rispetto a quanto previsto nei precedenti Piani, per esempio rafforzare la copertura nella popolazione adulta. Ricordiamo infatti che l'obiettivo generale da raggiungere entro il 2023 è di ottenere un'incidenza di <1 caso di morbillo / 1,000,000 individui della popolazione. Lo studio sull'andamento epidemiologico del morbillo in Italia negli ultimi anni porta a considerare di migliorare il livello di informazione e la divulgazione in ambito di prevenzione vaccinale anche nelle scuole, negli ambienti educativi e socio-sanitari.

Per evitare una nuova insorgenza di epidemie di morbillo sul territorio nazionale è necessaria una campagna di *catch-up* della vaccinazione contro il morbillo nei soggetti ancora suscettibili, soprattutto in età adulta, e in particolare nei lavoratori del settore sanitario.

## 5. BIBLIOGRAFIA

1. Sarah Aref, Katharine Bailey and Adele Fielding. Review Measles to the Rescue: A Review of Oncolytic Measles Virus. *Viruses* 2016, 8, 294; doi:10.3390/v8100294
2. Navaratnarajah CK(1), Generous AR(2), Yousaf I(2), Cattaneo R(2). Author information: (1)Mayo Clinic, Rochester, MN.(2)Mayo Clinic, United States. Receptor-mediated cell entry of Paramyxoviruses: mechanisms, and consequences for tropism and pathogenesis. *J Biol Chem.* 2020 Jan 16. pii: jbc.REV119.009961. doi: 10.1074/jbc.REV119.009961.
3. Naim HY. Measles virus. *Hum Vaccin Immunother.* 2015;11(1):21–26. doi:10.4161/hv.34298
4. Guerra FM(1), Bolotin S(2), Lim G(1), Heffernan J(3), Deeks SL(2), Li Y(1), Crowcroft NS(4). The basic reproduction number (R<sub>0</sub>) of measles: a systematic review. *Lancet Infect Dis.* 2017 Dec;17(12):e420-e428. doi: 10.1016/S1473-3099(17)30307-9. Epub 2017 Jul 27.
5. Epicentro: portale di epidemiologia per gli operatori sanitari ([www.epicentro.iss.it](http://www.epicentro.iss.it))
6. ISS Bollettino Nazionale Epidemiologico malattie infettive ([www.iss.it](http://www.iss.it))
7. CDC Centers for disease control and prevention ([www.cdc.gov](http://www.cdc.gov))
8. Bellini WJ(1), Rota PA. Biological feasibility of measles eradication. *Virus Res.* 2011 Dec;162(1-2):72-9. doi: 10.1016/j.viruses.2011.09.023. Epub 2011 Sep 22.
9. Piano Nazionale per l'eliminazione del morbillo e della rosolia congenita (PNEMoRc) 2019-2023
10. Rete MoRoNet, la rete nazionale dei laboratori di riferimento per il morbillo e la rosolia. ([www.moronetlab.it](http://www.moronetlab.it))
11. Adamo G, Baccolini V, Massimi A, Barbato D, Cocchiara R, Di Paolo C, Mele A, Cianfanelli S, Angelozzi A, Castellani F, Salerno C, Isonne C, Bella A, Filia A, Del Manso M, Baggieri M, Nicoletti L, Magurano F, Iannazzo S, Marzuillo C, Villari P. Towards elimination of measles and rubella in Italy: Progress and challenges. *PLoS One.* 2019 Dec 16;14(12):e0226513. doi: 10.1371/journal.pone.0226513. eCollection 2019. PubMed PMID: 31841530; PubMed Central PMCID: PMC6913993.
12. Guiding principles for immunization activities during the COVID-19 pandemic Interim guidance . WHO – EUROPEAN REGION. 26 March 2020
13. Orsi A, Butera F, Piazza MF, Schenone S, Canepa P, Caligiuri P, Arcuri C, Bruzzone B, Zoli D, Mela M, Sticchi L, Ansaldi F, Icardi G. Analysis of a 3-months measles outbreak in western Liguria, Italy: Are hospital safe and healthcare workers reliable? *J Infect Public Health.* 2019 Sep 24. pii: S1876-0341(19)30296-5. doi: 10.1016/j.jiph.2019.08.016. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 31561963.

14. Ansaldi F, Orsi A, Altomonte F, Bertone G, Parodi V, Carloni R, Moscatelli P, Pasero E, Comaschi M, Oreste P, Orengo G, Durando P, Icardi G. Syndrome surveillance and molecular epidemiology for early detection and tracing of an outbreak of measles in Liguria, Italy. *J Med Virol.* 2009 Oct;81(10):1807-13. doi: 10.1002/jmv.21584.

15. Magurano F, Baggieri M, Bordi L, Lalle E, Chironna M, Lazzarotto T, Amendola A, Baldanti F, Ansaldi F, Filia A, Declich S, Iannazzo S, Pompa MG, Bucci P, Marchi A, Nicoletti L. Measles in Italy: Co-circulation of B3 variants during 2014. *J Med Virol.* 2016 Jun;88(6):1081-5. doi: 10.1002/jmv.24416. Epub 2015 Nov 6. PubMed PMID: 26496509.

## **7. RINGRAZIAMENTI**

Ringrazio la dottoressa Bianca Bruzzone, il personale del laboratorio della UOC IGIENE di Genova, il professor Giancarlo Icardi e il professor Andrea Orsi dell'Università degli Studi di Genova per avermi supportato durante il mio dottorato.

Ringrazio inoltre i dottorandi e gli specializzandi della Scuola di Specialità di Igiene per la condivisione delle conoscenze e del percorso di crescita professionale e umana.

Ringrazio tutto lo staff per la condivisione della quotidianità del lavoro che rende originale, ricco e prezioso il mio cammino.