



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
FIRENZE

DOTTORATO DI RICERCA IN
SCIENZE BIOMEDICHE

CICLO XXXI

COORDINATORE Prof. Stefani Massimo

Valutazione, mediante test sierologici immunoenzimatici, della suscettibilità e dell'immunità verso l'epatite B in relazione allo stato vaccinale: uno studio di sieroprevalenza sulla popolazione residente nella provincia di Firenze

Settore Scientifico Disciplinare MED/42

Dottorando

Dott.ssa Zanella Beatrice

Tutore

Prof.ssa Bechini Angela

Coordinatore

Prof. Stefani Massimo

Anni 2015/2018

Indice

1.	INTRODUZIONE	4
1.1	Cenni sul ruolo e sul funzionamento del sistema immunitario	5
1.1.2	Immunità umorale e cellulo-mediata come risposte adattative	7
1.2	La vaccinazione: un valido intervento di prevenzione primaria verso le malattie infettive	11
1.2.1	Composizione dei vaccini	13
1.3	Gli obiettivi da raggiungere a livello globale, europeo e italiano	16
1.3.1	Global Vaccine Action Plan 2011-2020	17
1.3.2	European Vaccine Action Plan 2015-2020	18
1.3.3	Piano Nazionale Prevenzione Vaccinale 2017-2019 e Calendario Vaccinale.....	19
1.3.4	Decreto Vaccini: reintroduzione in Italia dell'obbligatorietà di dieci vaccinazioni	24
1.4	Monitoraggio dei programmi di vaccinazione	25
1.5	Epatite B.....	28
1.5.1	Marcatori sierologici	31
1.5.2	Prevenzione dell'epatite B	32
1.5.3	Impatto della vaccinazione anti-epatite B	34
1.5.4	La vaccinazione anti-epatite B in Italia.....	40
1.5.5	Epidemiologia dell'epatite B in Europa	44
1.5.6	Epidemiologia dell'epatite B in Italia e in Toscana.....	47
1.5.7	Coperture vaccinali anti-epatite B in Italia e in Toscana.....	51
1.6	Scopo della ricerca	54
2.	MATERIALI E METODI.....	56
2.1	Disegno dello studio.....	56
2.2	Popolazione in studio	56
2.3	Criteri di inclusione	60
2.4	Arruolamento.....	61
2.5	Raccolta del consenso informato.....	61
2.6	Distribuzione e compilazione del questionario.....	62
2.7	Prelievo e conservazione dei campioni di sangue	63
2.8	Raccolta dati dal questionario ed inserimento in database.....	63
2.9	Conferma dello stato vaccinale e anamnestico	63
2.10	Valutazione del grado di concordanza fra ricordo vaccinale e anagrafe vaccinale	64
2.11	Analisi sierologiche.....	65
2.11.1	Determinazione quantitativa degli anticorpi diretti contro l'antigene di superficie dell'epatite B (anti-HBs)	66

2.11.2	Determinazione qualitativa degli anticorpi totali anti-antigene <i>core</i> del virus dell'epatite B (anti-HBc).....	68
2.12	Inserimento dei dati sierologici in database e analisi statistica.....	70
2.13	Confronto dei risultati sierologici con precedenti studi sieroepidemiologici condotti sul territorio toscano.....	71
3.	RISULTATI	72
3.1	Informazioni anagrafiche della popolazione pediatrica e adolescente arruolata	72
3.2	Analisi descrittiva delle risposte raccolte nel questionario	73
3.2.1	Valutazione del ricordo anamnestico	74
3.2.2	Valutazione del ricordo di avvenuta vaccinazione.....	75
3.3	Conferma dello stato vaccinale e anamnestico nei confronti dell'epatite B	77
3.4	Valutazione del grado di concordanza fra ricordo di vaccinazione anti-epatite B e anagrafe vaccinale	78
3.5	Analisi sierologiche per epatite B.....	79
3.5.1	Analisi quantitativa degli anticorpi anti-HBs.....	79
3.5.2	Analisi qualitativa per la ricerca degli anticorpi anti-HBc	84
4.	DISCUSSIONE.....	85
4.1	Arruolamento dei soggetti pediatrici.....	85
4.2	Analisi dei questionari.....	85
4.3	Analisi sierologiche.....	88
4.4	Andamento dei livelli di immunità nella popolazione della Regione Toscana.....	90
5.	CONCLUSIONI.....	95
6.	ALLEGATI	97
6.1	Allegato A.....	97
6.2	Allegato B	98
6.3	Allegato C	109
6.4	Allegato D.....	118
6.5	Allegato E	121
6.6	Allegato F.....	126
6.7	Allegato G.....	128
6.8	Allegato H.....	131
6.9	Allegato I	132
	BIBLIOGRAFIA.....	134

1. INTRODUZIONE

Le malattie infettive sono causate da microorganismi patogeni, come batteri, virus, funghi o protozoi che, una volta entrati in contatto con l'individuo ospite, sono in grado di riprodursi in esso, causandone un'alterazione funzionale e di conseguenza la patologia. Ancora oggi sono una delle principali cause di malattia, disabilità e morte rappresentando quindi un problema di Sanità Pubblica, soprattutto nei paesi più poveri del mondo. Nel 2016 l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) ha inserito nella lista delle dieci principali cause di morte a livello globale tre malattie infettive: le infezioni delle basse vie respiratorie sono state la quarta causa di morte con poco meno di 3 milioni di decessi; nona causa di morte è rappresentata da malattie diarroiche (circa 1,4 milioni di decessi nel 2016) seguita dalla tubercolosi che ha determinato quasi 1,3 milioni di decessi (Figura 1) [1].

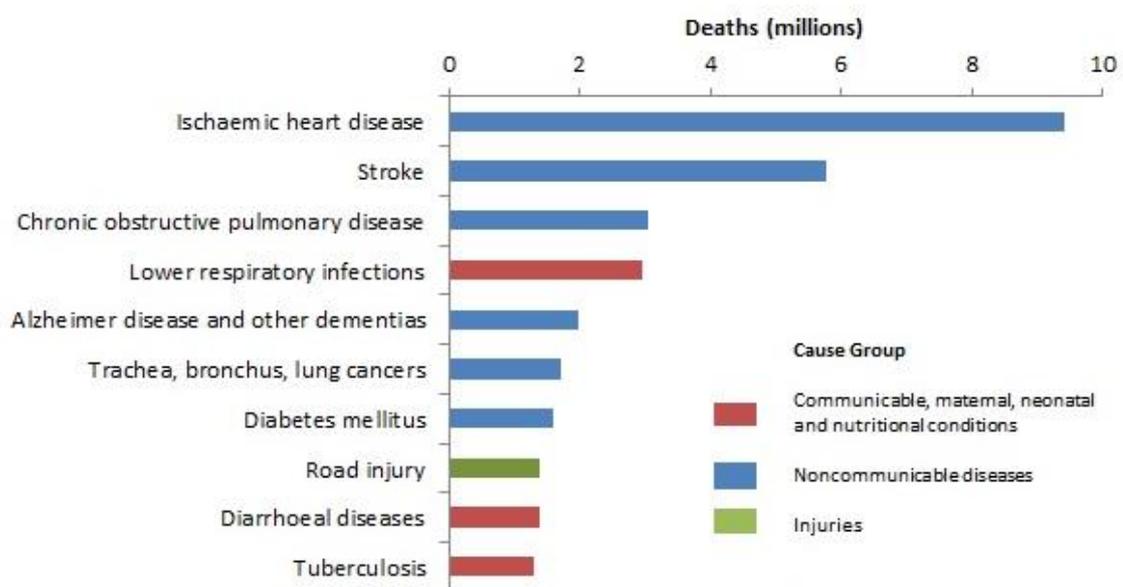


Figura 1: Prime dieci cause di morte a livello globale nel 2016. Fonte: Global Health Estimates 2016: Deaths by cause, age, sex, by country and by Region, 2000-2016. Geneva, WHO; 2018 [1].

Il miglioramento delle condizioni igienico-sanitarie e l'introduzione delle vaccinazioni hanno consentito di contenere la diffusione di molte malattie infettive. I vaccini sono considerati uno dei più efficaci interventi in ambito medico, secondi solo alla potabilizzazione delle acque in termini di riduzione della mortalità umana [2]. Il raggiungimento di adeguati livelli di coperture vaccinali all'interno di una popolazione consente di ridurre i tassi di mortalità e morbosità delle malattie infettive vaccino-prevenibili. I benefici prodotti dalla vaccinazione hanno un impatto positivo sia a livello

del singolo individuo che la riceve, che di comunità, offrendo protezione anche alle persone suscettibili non vaccinate (*herd immunity* – immunità di gregge [3]). L'implementazione di intensive campagne di immunizzazione ha permesso di raggiungere importanti traguardi storici in Sanità Pubblica: nel Maggio del 1980, in occasione della 33° Assemblea Mondiale della Salute, l'OMS dichiarò l'eradicazione mondiale del vaiolo [4]; successivamente nel 2002, è stato dichiarato lo stato "*polio-free*" dagli stati membri della Regione Europea dell'OMS [5].

Anche nei paesi ad alto reddito come l'Italia, dove l'introduzione dei programmi universali di vaccinazione ha ridotto il carico delle malattie infettive più pericolose per la salute dell'uomo, è importante continuare a monitorare lo stato di immunità della popolazione, a livello nazionale, regionale o locale, in modo da identificare possibili gruppi suscettibili e ad alto rischio. La valutazione dei profili di sieroprevalenza in una popolazione può supportare i decisori di Sanità Pubblica nella programmazione delle strategie di vaccinazione.

1.1 Cenni sul ruolo e sul funzionamento del sistema immunitario

Il sistema immunitario è una fitta rete integrata di mediatori chimici e cellulari in grado di difendere l'organismo da qualsiasi forma di pericolo (chimico, microbiologico e traumatico) mediante l'attivazione di risposte specifiche. La risposta immunitaria attivata consente di discriminare la componente *self* da elementi *non-self* potenzialmente dannosi, ed eliminare questi ultimi per mantenere l'omeostasi e l'integrità dell'organismo. Quando l'elemento *non-self* è un componente di un agente patogeno, l'individuo può instaurare uno stato di resistenza nei suoi confronti, definito immunità. Il sistema immunitario dell'uomo si divide in due grandi componenti: l'immunità innata aspecifica e l'immunità adattativa specifica.

L'immunità innata (naturale o nativa) garantisce una prima forma di difesa verso agenti estranei: consiste in una serie di meccanismi di difesa cellulare e biochimici pre-esistenti all'infezione, che riescono a contrastare con rapidità l'ingresso di un agente estraneo. Tutti questi meccanismi reagiscono generalmente allo stesso modo alle ripetute esposizioni, andando a riconoscere strutture comuni a gruppi di microrganismi correlati, senza però riuscire a distinguere piccole differenze fra microbi diversi. I principali componenti della difesa innata sono rappresentati da:

- Barriere fisiche e meccaniche: cute integra, epiteli delle mucose
- Barriere chimiche: sostanze antimicrobiche come il lisozima, acidi grassi, enzimi, pH (dello stomaco, della vagina), defensine, particolari categorie di proteine del sangue (sistema del complemento, lattoferrina, transferrina e mediatori della flogosi), anticorpi delle mucose (IgA)
- Barriere microbiologiche: azione competitiva svolta dalla flora batterica delle mucose (intestinale, apparato respiratorio e cutaneo), microrganismi commensali presenti sulla pelle
- Barriere cellulari: fagociti (macrofagi e granulociti neutrofili), cellule dendritiche, cellule Natural Killer (NK), cellule linfoidi innate.

L'immunità adattativa (specifica o acquisita) si sviluppa in un secondo momento e si adatta in risposta all'infezione stessa. Il sistema immunitario adattativo è in grado di riconoscere un numero elevato di sostanze estranee (anche non microbiche): gli elementi riconosciuti dai linfociti che inducono una risposta immunitaria specifica sono definiti antigeni. Le due principali caratteristiche per cui si contraddistingue la risposta immunitaria adattativa sono la specificità, ovvero la possibilità di distinguere un numero elevato di sostanze diverse; e la memoria, cioè la capacità di rispondere con maggiore vigore a esposizioni ripetute ad uno stesso microrganismo. I componenti cellulari principali della risposta adattativa sono i linfociti dai quali dipende anche la produzione e secrezione degli anticorpi, proteine in grado di riconoscere e sequestrare gli antigeni.

La risposta immunitaria innata e quella adattativa sono dunque parte di un sistema integrato di meccanismi di difesa: la componente innata fornisce una prima forma di difesa piuttosto efficace verso le infezioni, mentre quella adattativa consente di superare l'attacco da parte di quei microrganismi che hanno evoluto delle proprietà che gli permettono di superare le barriere dell'immunità innata (Figura 2) [6].

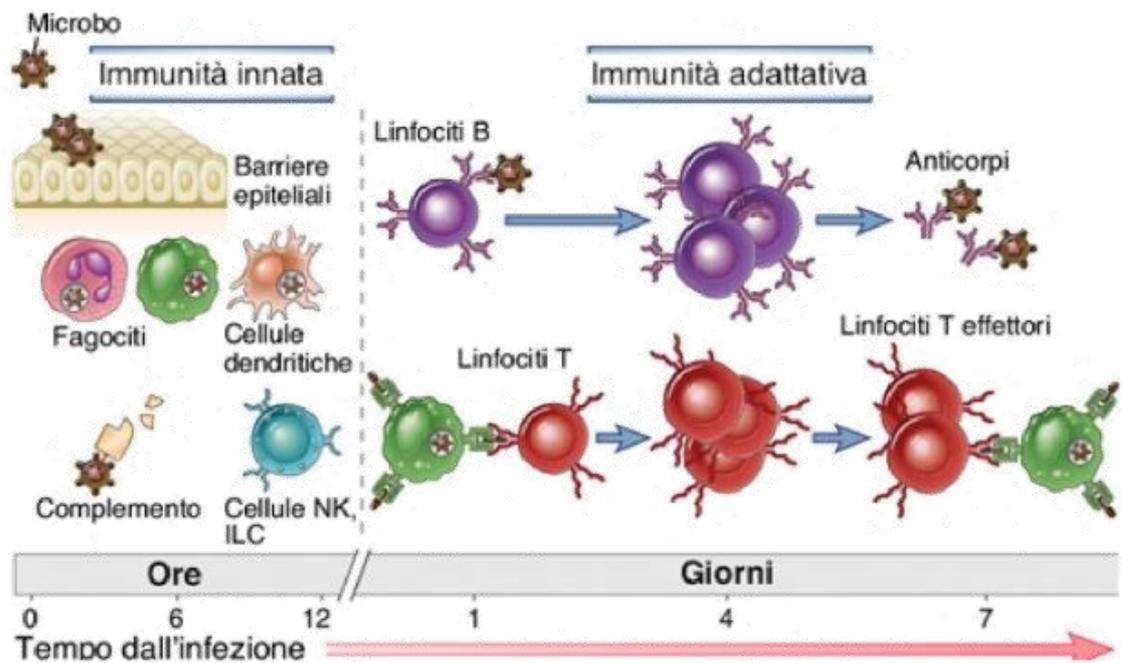


Figura 2: Rappresentazione schematica del ruolo svolto dall'immunità innata, messa in atto a prevenzione di un'infezione e dall'immunità adattativa, attivata in un secondo momento in caso di infezione. ILC: Cellula linfoide innata; NK: cellula Natural Killer. Illustrazione: Abbas A K et al, 2015. Immunologia cellulare e molecolare. 8° Edizione. Edizioni Edra, Milano [6].

1.1.2 Immunità umorale e cellulo-mediata come risposte adattative

La risposta adattativa si divide in due tipologie, a seconda del *pathway* attivato dopo il contatto con l'agente estraneo: la risposta umorale e la risposta cellulo-mediata, le quali hanno funzioni differenti.

L'immunità umorale consiste nell'attivazione dei linfociti B, cellule che nei mammiferi adulti originano e maturano nel midollo osseo. Le cellule B sono geneticamente programmate per codificare un recettore di superficie specifico per un particolare antigene e dopo averlo riconosciuto, si differenziano in plasmacellule (cellule effettrici) capaci di produrre anticorpi, e in cellule della memoria. Le immunoglobuline prodotte sono circolanti nel siero e sono in grado di riconoscere in maniera specifica un determinato antigene inducendo una risposta che comporterà l'eliminazione del patogeno per neutralizzazione del microrganismo, per fagocitosi o mediante attivazione del complemento.

L'immunità cellulo-mediata si basa sull'azione diretta da parte dei linfociti T, cellule immunitarie effettrici che maturano nel timo, e che si attiva generalmente quando il

microorganismo è un patogeno intracellulare come i virus o alcuni batteri. Le diverse forme effettrici dei linfociti T mediano pertanto azioni differenti (Figura 3) [6]:

- Linfociti T-Helper (CD4 TH): comprendono quattro diverse sottopopolazioni di linfociti in grado di riconoscere il complesso maggiore di istocompatibilità di classe II (MHC II) e che vengono attivate solo dalle cellule che presentano l'antigene (APC: *Antigen Presenting Cell*). La sottopopolazione dei linfociti CD4 TH1 è principalmente coinvolta nell'attivazione dei macrofagi per l'eliminazione di microrganismi che tendono a permanere nelle vescicole del macrofago (micobatteri, *Listeria*, *Leishmania donovani*, *Pneumocystis carinii*...); l'interazione fra linfocita CD4 TH1 e macrofago avviene mediante l'esposizione dell'antigene sul MHC II del macrofago. Inoltre le cellule CD4 TH1 possono fornire un supporto alle cellule B durante la produzione degli anticorpi. La sottopopolazione CD4 TH2 prende parte maggiormente alla risposta verso macroparassiti (come elminti) o allergeni, mediante l'attivazione di mastociti ed eosinofili; anche questa sottopopolazione può aiutare le cellule B nella produzione degli anticorpi, soprattutto della classe IgE. I linfociti CD4 TH17 prendono invece parte alla risposta verso funghi o batteri extracellulari (generalmente del tratto gastrointestinale, come *Salmonella enterica*), richiamando granulociti neutrofili nel sito di infezione. Infine i linfociti T CD4 Regolatori (o soppressori) sono coinvolti nella soppressione delle risposte attivate dalle altre cellule T, determinando pertanto lo spegnimento della risposta immunitaria e contribuendo alla tolleranza periferica. Tuttavia un'alterazione nella loro attività può essere causa di processi autoimmuni ed inoltre tale regolazione viene sfruttata dalle cellule tumorali per eludere il sistema immunitario.
- Linfociti T-citolitici o citotossici (CTL, CD8): mediano una risposta specifica verso i patogeni intracellulari (principalmente i virus o alcuni batteri intracellulari), determinando la loro uccisione mediante apoptosi (morte cellulare programmata) nella cellula bersaglio. Ciò comporta dunque, non solo l'eliminazione del patogeno, ma anche della cellula infettata. I linfociti CTL presentano sulla loro membrana cellulare il recettore per l'antigene (*T-cell*

receptor, TCR) in grado di riconoscere l'antigene associato al MHC di classe I posto sulla superficie della cellula infettata.

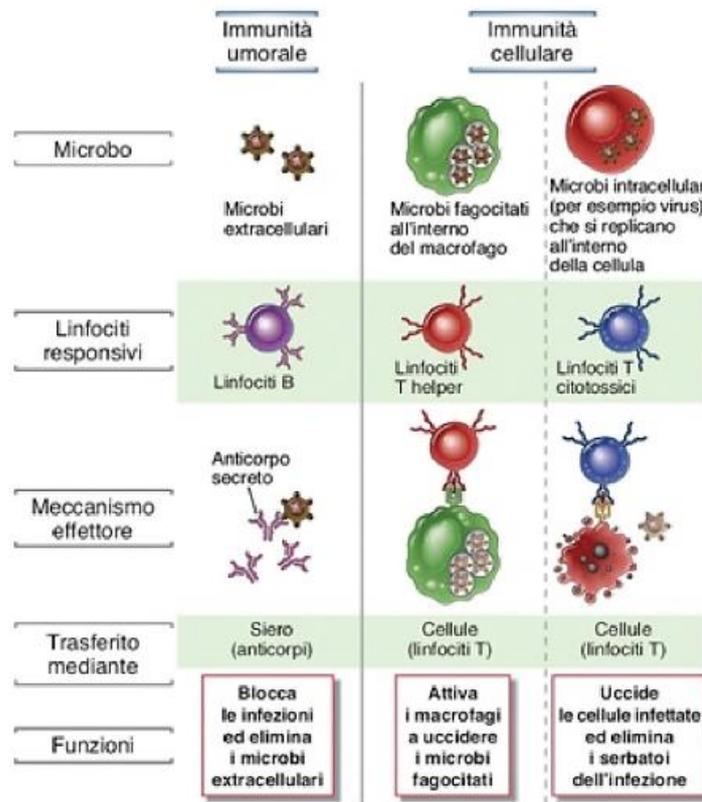


Figura 3: Principali differenze fra risposta adattativa umorale e cellulo-mediata. Illustrazione: Abbas A K et al, 2015. Immunologia cellulare e molecolare. 8° Edizione. Edizioni Edra, Milano [6].

Risposta immunitaria umorale e cellulo-mediata condividono alcune proprietà necessarie al sistema immunitario per poter svolgere la sua funzione fisiologica (Figura 4) [6].

La **specificità** assicura che la risposta immunitaria verso un microorganismo o un antigene non microbico sia diretta per quel microbo o per quell'antigene. Ciò è possibile perché i linfociti presentano sulla loro membrana cellulare differenti recettori che consentono loro di discriminare diversi epitopi ovvero parti strutturali di macromolecole antigeniche (come proteine o polisaccaridi) che caratterizzano un particolare microorganismo.

Il sistema immunitario di un individuo è in grado di rispondere ad un'elevata varietà di antigeni: questa proprietà è definita **diversificazione** e si stima che il repertorio linfocitario di un individuo possa essere dell'ordine di $10^7 - 10^9$ diversi determinanti antigenici riconoscibili.

La **memoria** immunologica aumenta la capacità dell'organismo di contrastare infezioni ripetute nel tempo causate dallo stesso patogeno. Il primo contatto fra sistema immunitario e antigene *non-self* induce una risposta primaria durante la quale si generano anche cellule a lunga sopravvivenza specifiche per quel determinato antigene, in caso di successive esposizioni al medesimo antigene si genera una risposta secondaria (o terziaria) generalmente più rapida e più potente di quella primaria. Le cellule della memoria sono più numerose e più efficienti dei rispettivi cloni di linfociti *naïve* (dotati della stessa specificità e presenti prima dell'infezione).

Quando i linfociti riconoscono uno specifico antigene vanno incontro ad un'intensa attività di proliferazione, questa fase è definita **espansione clonale** e porta all'aumento del numero dei linfociti che esprimono lo stesso recettore che ha riconosciuto l'antigene. In questo modo il sistema immunitario può fronteggiare l'eventuale rapido aumento dei patogeni che si replicano nell'individuo ospite.

La **specializzazione** consente al sistema immunitario di attivare in modo differenziato la risposta umorale o la risposta cellulo-mediata in base alle caratteristiche vitali del patogeno (ad esempio intracellulare o extracellulare), garantendo la massima efficienza dei meccanismi di difesa.

La fase conclusiva del processo di attivazione di una risposta immunitaria adattativa consiste nella **risoluzione e omeostasi**: tutti i linfociti, esclusi quelli della memoria, una volta rimosso lo stimolo antigenico vanno incontro ad apoptosi, ristabilendo così una condizione di omeostasi del sistema immunitario.

Una delle principali caratteristiche del sistema immunitario di un soggetto sano è la non **reattività al self (o tolleranza)**, cioè la capacità di non reagire dannosamente verso i propri antigeni. Molti processi biologici garantiscono la tolleranza immunologica, come l'eliminazione di linfociti che presentano recettori per antigeni *self*, l'inattivazione di linfociti autoreattivi o l'azione soppressiva dei linfociti T regolatori; tuttavia, quando questi i meccanismi risultano alterati, si possono verificare risposte immunitarie verso componenti *self* che possono essere alla base di patologie autoimmuni.

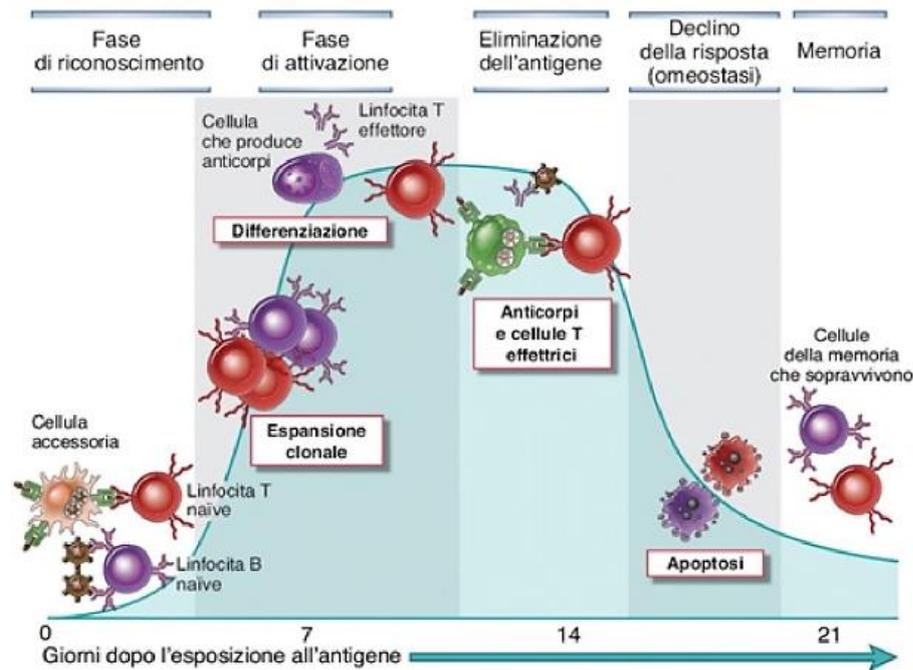


Figura 4: Schema delle principali fasi della risposta immunitaria adattativa. Illustrazione: Abbas A K et al, 2015. Immunologia cellulare e molecolare. 8° Edizione. Edizioni Edra, Milano [6].

La risposta immunitaria adattativa sviluppata può essere ulteriormente classificata in:

- **Attiva:** quando è l'agente infettivo, o uno o più antigeni del patogeno, a indurre la risposta; può essere attiva-naturale se l'individuo acquisisce lo stato di immunità a causa dell'infezione naturale o attiva-artificiale se la persona si immunizza mediante la vaccinazione.
- **Passiva:** se vengono somministrati direttamente al soggetto anticorpi o cellule T specifiche. Anche in questo caso è possibile distinguere in immunità passiva-naturale quando il passaggio degli anticorpi avviene da madre a figlio attraverso la placenta durante la gravidanza, o mediante l'allattamento al seno dopo la nascita, e in passiva-artificiale quando si somministrano sieri iperimmuni.

1.2 La vaccinazione: un valido intervento di prevenzione primaria verso le malattie infettive

Il principio su cui si basano i vaccini, sebbene fondato solo su conoscenze puramente empiriche, era noto fin dall'antichità: si era infatti capito che il nostro organismo non dimentica l'incontro con una determinata malattia, ma ne conserva il ricordo [7-10]. Lo storico greco Tucidide, raccontando gli eventi della drammatica epidemia denominata "la peste di Atene" nella sua opera "La Guerra del Peloponneso" (V secolo a.C.),

menziona per primo la capacità di un soggetto di potersi immunizzare verso un'infezione, infatti scriveva “[...] *coloro che si erano salvati dall'epidemia [...] per se stessi non avevano più nulla da temere: il contagio infatti non colpiva mai due volte la stessa persona, almeno non in forma così forte da risultare mortale*¹”.

Anche in altri paesi asiatici come in Turchia, Cina e India, si diffuse una pratica empirica di immunizzazione per resistere al vaiolo detta “variolazione” o “variolizzazione”, la quale consisteva nell'infettare volontariamente le persone sperando di causare la malattia in forma lieve, rendendole così immuni. In Europa questa prima forma di vaccinazione fu introdotta agli inizi del '700 e verso la fine del secolo, grazie al contributo scientifico del medico e naturalista Edward Jenner, divenne una pratica più sicura. Jenner aveva notato nelle mungitrici della campagna di Bristol che queste venendo a contatto con le pustole di mucche affette dal vaiolo vaccino erano immuni dalla forma umana della malattia. A conferma di ciò che aveva osservato, il medico inglese inoculò del fluido prelevato dalle pustole di una mucca malata di vaiolo vaccino in un bambino di 8 anni ed espose più volte al vaiolo umano il ragazzo, il quale rimase immune. Nonostante oggi si ritenga eticamente discutibile la modalità di sperimentazione di Jenner, è però grazie a lui che si ebbe la prima prova scientifica che l'infezione causata dalla forma vaccina del vaiolo potesse conferire immunità verso quello umano; ed è proprio dalle osservazioni del medico inglese che deriva il termine “vaccino”: letteralmente “delle mucche”. Anche in Italia la pratica della vaccinazione iniziò a diffondersi a fine del XVIII secolo grazie al ruolo del medico Luigi Sacco, considerato il pioniere della vaccinazione anti-vaiolosa in Italia [11].

La vaccinazione risulta quindi una delle più importanti scoperte effettuate in ambito medico che ha contribuito all'aumento della speranza di vita della nostra popolazione riducendo notevolmente i tassi di incidenza e mortalità di alcune delle più pericolose malattie infettive. È ancora oggi uno degli strumenti più costo-efficace di prevenzione primaria: grazie all'implementazione di campagne di vaccinazione, l'OMS stima che sia possibile evitare fra 2-3 milioni di morti ogni anno e consente di controllare ed eliminare malattie infettive potenzialmente letali anche nelle popolazioni più vulnerabili o di paesi

¹ Tucidide. La guerra del Peloponneso, libro II, 51.6

difficili da raggiungere [12]. Riducendo quindi notevolmente il carico economico di molte malattie infettive, la vaccinazione rappresenta uno degli investimenti più convenienti in ambito di Sanità Pubblica.

Oggi questa pratica medica consiste nella somministrazione in una persona sana di uno specifico vaccino, prodotto biologico costituito da piccole quantità di agenti infettivi inattivati (virus o batteri o parti antigeniche di essi) o vivi e attenuati in grado di mimare l'infezione naturale ma senza causare la patologia; il sistema immunitario attiva quindi i meccanismi di riconoscimento e di difesa stimolando una specifica risposta immunitaria adattativa che immunizza il soggetto, il quale sarà in grado di eliminare l'agente patogeno in caso di eventuali contatti futuri senza sviluppare alcun sintomo della malattia.

Così come hanno mostrato le evidenze scientifiche acquisite durante i numerosi *trial* clinici controllati e gli studi *post-marketing*, la vaccinazione offre non solo un beneficio diretto verso il singolo che si immunizza contro una determinata malattia, ma anche un vantaggio indiretto derivante dallo stato di immunizzazione generale della popolazione mediante il principio di *herd immunity* [3]; l'immunizzazione di un elevato numero di persone contro una specifica malattia per un lungo arco di tempo impedisce all'agente patogeno di circolare all'interno della popolazione e dunque di trasmettersi, determinando la sua scomparsa definitiva (eradicazione o eliminazione), se l'uomo è l'unico ospite.

1.2.1 Composizione dei vaccini

I vaccini autorizzati per l'uso nell'uomo sono medicinali biologici che contengono in sospensione gli antigeni degli agenti patogeni di una determinata malattia infettiva. I notevoli progressi effettuati in ambito tecnologico e scientifico hanno permesso di sviluppare farmaci estremamente sicuri e di elevata qualità, e più in generale si può affermare che quanto più il vaccino è simile all'agente eziologico della malattia infettiva tanto migliore è la risposta immunologica sviluppata. Attualmente i vaccini possono essere suddivisi in due categorie principali (vaccini vivi attenuati e inattivati) che presentano caratteristiche di composizione e preparazioni differenti e anche una diversa efficacia in termini di durata della protezione conferita [13].

I **vaccini con agenti vivi attenuati** sono costituiti da ceppi mutanti avirulenti o attenuati dell'agente patogeno selvaggio ottenuti in laboratorio: essendo stata eliminata (o ridotta drasticamente) la patogenicità del microrganismo non sono in grado di sviluppare la malattia nel soggetto in cui vengono inoculati, ma mantenendo la capacità di replicarsi sono capaci di indurre una risposta immunitaria generalmente più forte e duratura, molto simile a quella che si avrebbe per infezione naturale. Nonostante il vantaggio derivato dalla protezione a lungo termine, questa tipologia di vaccini non può essere somministrata in particolari categorie di persone, come soggetti immunodepressi (affetti da immunodeficienze primarie o secondarie) o immunosoppressi (sottoposti a terapia immunosoppressiva) e sono inoltre controindicati in donne in stato di gravidanza a causa del rischio ipotetico di danno fetale dovuto alla replicazione del patogeno. Inoltre, un'altra possibile reazione avversa che può teoricamente verificarsi è la reversione dell'agente infettivo alla forma *wild type* patogena; tuttavia questo fatto si è descritto solo per il vaccino orale anti-polio e l'OMS stima che il rischio complessivo di poliomielite associata da vaccinazione (*Vaccine-Associated Paralytic Poliomyelitis*, VAPP) sia di un caso su 2,4 milioni di dosi somministrate [14].

Alcuni esempi di vaccini vivi attenuati virali attualmente disponibili sono il vaccino trivalente morbillo-parotite-rosolia (MPR), il tetravalente morbillo-parotite-rosolia-varicella (MPRV), il vaccino contro l'*Herpes zoster* e il rotavirus, fra i vaccini derivati dall'attenuazione di batteri si può includere il vaccino orale anti-tifoideo e il vaccino antitubercolare BCG (Bacillo di Calmette-Guerin) [13].

I **vaccini inattivati** si ottengono mediante la crescita dei batteri o dei virus in mezzi di coltura con successiva esposizione a fattori chimici (generalmente formalina) o fisici (calore); oppure, se il vaccino è costituito da elementi del patogeno, è necessario prima purificare i componenti antigenici da includere. Questi processi consentono di mantenere l'integrità antigenica, ma determinano la perdita sia della patogenicità che della capacità di replicazione dei microrganismi, i quali, di conseguenza, non possono causare nemmeno forme lievi della malattia; rendendo quindi possibile la somministrazione di questa tipologia di vaccini anche a soggetti che presentano deficit immunitari. Tuttavia, per poter assicurare un'immunizzazione forte e duratura è necessario che abbiano concentrazioni antigeniche piuttosto elevate e che siano

somministrate più dosi del vaccino, considerando che generalmente la prima non evoca un'adeguata risposta immunitaria. In generale, però i titoli anticorpali tendono a diminuire nel tempo, pertanto alcuni vaccini inattivati possono richiedere delle periodiche dosi di richiamo per avere un effetto *booster* che aumenta nuovamente le concentrazioni degli anticorpi circolanti.

Attualmente sono maggiormente disponibili vaccini interi inattivati virali come l'anti-polio (IPV), anti-epatite A o il vaccino anti-rabbico, mentre molti dei vaccini interi attenuati batterici, come quello a cellule intere per la pertosse, non sono più autorizzati in vari paesi.

I vaccini inattivati costituiti da componenti antigeniche possono essere di natura proteica (con tossoidi, a subunità oppure con prodotti di subvirioni) o di natura polisaccaridica, contenenti i polisaccaridi purificati della parete batterica; questi in alcuni casi vengono coniugati a proteine per rendere più efficace il vaccino. Fra i vaccini inattivati a componenti proteiche si hanno l'anti-tetanico (composto dall'anatossina tetanica) e i vaccini anti-epatite B e anti-HPV entrambi formati da subunità virali. Nei vaccini inattivati a componenti polisaccaridiche sono inclusi i vaccini anti-pneumococco e anti-meningococco, sia nella formulazione pura che coniugata, e l'anti-*Haemophilus influenzae* di tipo B (Hib) coniugato.

Oggi alcuni vaccini sono ottenuti mediante tecniche di ingegneria genetica, per questo sono anche classificati come vaccini ricombinanti; di questi fanno parte i vaccini inattivati a componenti anti-epatite B, anti-HPV e anti-influenzale e i vaccini vivi attenuati anti-tifoideo e anti-influenzale. I primi tre sono prodotti grazie a cellule di lievito o virus modificati per produrre, rispettivamente, l'antigene di superficie del virus HBV, le proteine del capsido dei virus HPV e l'antigene emoagglutinina dei virus influenzali; mentre l'anti-tifoideo è ottenuto mediante modificazione genetica del batterio *Salmonella typhi* in un mutante non patogeno e il vaccino anti-influenzale vivo attenuato è composto da virus modificati per replicarsi nel tratto nasofaringeo e non nei polmoni [13].

A partire dai primi anni del 2000 nella comunità scientifica medica si è affacciata una nuova modalità di progettazione dei vaccini, nota come *Reverse Vaccinology* (Figura 5),

che si basa sull'uso di informazioni genomiche senza dover ricorrere alle tradizionali tecniche microbiologiche di coltura. Questo nuovo approccio presenta numerosi vantaggi come la possibilità di ridurre i tempi nell'individuare una possibile nuova formulazione vaccinale e di fornire nuove soluzioni per tutti quei vaccini di cui è difficile (o impossibile) lo sviluppo [15].

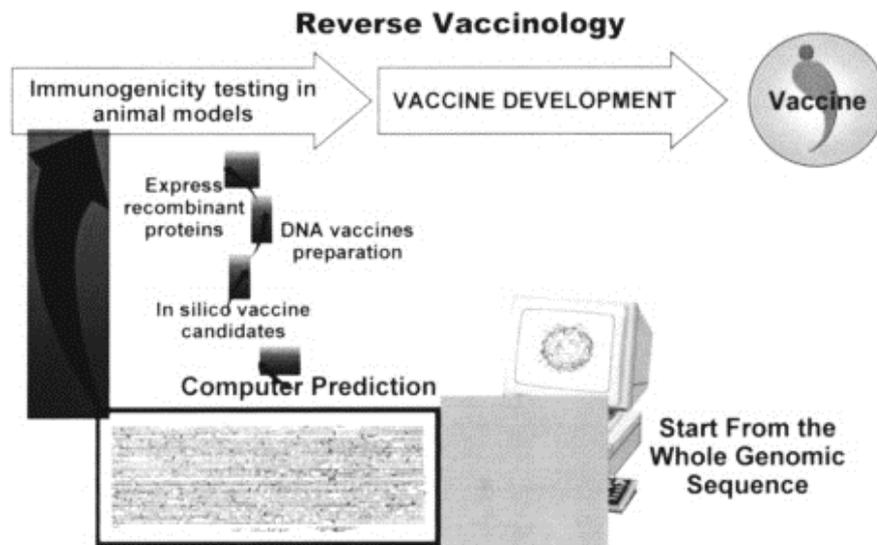


Figura 5: Schema dei principi su cui si basa il processo di *Reverse Vaccinology* per lo sviluppo di un vaccino. Illustrazione: Rappuoli, 2001 [15].

Altre sostanze chimiche sono generalmente usate nella produzione dei vaccini, come fluidi di sospensione (acqua sterile, soluzione fisiologica o soluzioni contenenti proteine) ed elementi definiti **additivi** che comprendono: gli adiuvanti (come idrossido di alluminio o fosfato di alluminio) che rinforzano la risposta immunitaria; i conservanti (antibiotici e antisettici) che esercitano un'azione batteriostatica o battericida; e le sostanze stabilizzanti (albumina) che servono per evitare modificazioni nella composizione del vaccino in caso di variazioni di temperatura e umidità. Inoltre nei vaccini possono essere presenti piccoli residui (ad esempio proteine delle uova di gallina) dei terreni di coltura usati per la crescita dei virus o dei batteri durante la produzione del vaccino [16].

1.3 Gli obiettivi da raggiungere a livello globale, europeo e italiano

Lo sviluppo e la disponibilità di molti nuovi vaccini rivolti alle diverse fasce d'età, la comparsa di nuove tecnologie, l'attenzione pubblica maggiormente focalizzata sui problemi di sicurezza dei vaccini, l'intensificazione delle procedure per la regolamentazione e l'approvazione dei vaccini e la necessità di estendere i programmi

di immunizzazione alle varie fasce d'età della popolazione o a particolari gruppi a rischio, richiedono oggi una maggiore attenzione. Risulta quindi fondamentale che i Paesi possano disporre di validi ed aggiornati sistemi decisionali riguardo alle priorità di vaccinazione, all'implementazione di nuove strategie vaccinali, di nuovi vaccini o di nuove tecnologie e un valido supporto è offerto dall'OMS che, nel corso degli ultimi anni ha definito specifiche linee guida, con la visione di un mondo libero dalle malattie infettive vaccino-prevenibili.

1.3.1 Global Vaccine Action Plan 2011-2020

Il valore inestimabile offerto dai vaccini è stato la forza trainante del *"Decade of Vaccines"* un'iniziativa promossa nel 2010 durante il *World Economic Forum*, il cui scopo principale è estendere e garantire i benefici della vaccinazione a tutti i cittadini senza alcuna distinzione [17]; la proposta è stata accolta dai diversi governi e nel 2012 l'OMS ha approvato il piano denominato *"Global Vaccine Action Plan (GVAP) 2011-2020"* [18]. Il documento è stato sottoscritto da 194 stati membri e raccoglie cinque *goals* da raggiungere entro il 2020, sei obiettivi strategici e le azioni a supporto che permetteranno il successo di questa iniziativa. Nel dettaglio i cinque traguardi da raggiungere entro il 2020 sono rappresentati da:

1. Certificazione dell'eradicazione della poliomielite in tutti i paesi del mondo
2. Eliminazione del tetano neonatale in tutte le regioni dell'OMS e del morbillo e della rosolia in almeno 5 regioni dell'OMS
3. Raggiungere CV del 90% a livello nazionale e dell'80% in ogni distretto (o nell'equivalente unità amministrativa) per tutti i vaccini inclusi nei programmi di vaccinazione nazionale (a meno di altre raccomandazioni)
4. Introdurre nuovi vaccini nei paesi a basso e medio reddito e favorire lo sviluppo di nuovi vaccini verso malattie infettive per cui ancora non è previsto
5. Superare la soglia di riduzione della mortalità infantile prevista nel documento *Millennium Development Goals (MDG)* (MDG 4.A: entro il 2015 ridurre di due terzi il tasso di mortalità nei bambini sotto i 5 anni di età [19]).

Il 2016, anno che definisce la metà del cammino da percorrere, ha messo in luce che le azioni promosse sono state efficaci per il conseguimento di alcuni *goals*: l'anno ha registrato il minor numero di casi di poliomielite da poliovirus selvaggio con un totale di

37 casi riportati in soli tre paesi (Afghanistan, Pakistan e Nigeria), inoltre Guinea Equatoriale, Indonesia, Niger e la provincia del Punjab (la più popolosa del Pakistan) hanno raggiunto l'eliminazione del tetano materno e neonatale, entrambi risulteranno eliminati in tutto il sud-est asiatico una volta che anche l'Indonesia raggiungerà tale obiettivo; altro risultato positivo è rappresentato dal superamento della soglia dei 90 paesi a basso e medio reddito che hanno introdotto nuovi vaccini (in totale 108 paesi nel 2016). Tuttavia, i passi in avanti fatti fino ad ora non sono sufficienti per raggiungere la maggior parte degli obiettivi entro il 2020, infatti per morbillo e rosolia una sola regione (l'America) ha dichiarato la loro eliminazione, la copertura vaccinale a tre dosi per difterite-tetano-pertosse (DTP3) è aumentata di un solo punto percentuale dal 2015 al 2016 (CV: 86% a livello globale), e ancora un bambino su 10 nel 2016 non ha ricevuto alcuna vaccinazione esponendolo quindi ad un serio rischio di contrarre una malattia infettiva potenzialmente letale: questo fa dedurre che sarà necessario spostare a dopo il 2020 il raggiungimento di alcuni obiettivi [20].

1.3.2 European Vaccine Action Plan 2015-2020

Le direttive contenute nel GVAP 2011-2020 sono state recepite dai vari paesi aderenti all'iniziativa e sono state quindi "tradotte" in piani regionali: a livello Europeo il documento di riferimento che ha saputo interpretare, integrare e adattare alla realtà europea il GVAP 2011-2020, è rappresentato da "European Vaccine Action Plan (EVAP) 2015-2020" il cui obiettivo è superare gli specifici bisogni e le sfide in ambito di vaccinazione a livello europeo mediante la progettazione di sei traguardi da realizzare fra il 2015 e il 2020 per il controllo delle malattie infettive vaccino-prevenibili [21]:

1. Mantenere lo stato *polio-free*
2. Eliminare morbillo e rosolia
3. Mantenere il controllo dell'infezione da virus dell'epatite B
4. Raggiungere le coperture vaccinali europee *target* a tutti i livelli amministrativi e gestionali
5. Supportare l'introduzione di nuovi vaccini mediante evidenze scientifiche
6. Raggiungere la sostenibilità economica dei piani nazionali di immunizzazione.

Di fondamentale importanza sono i cinque strumenti utili per il raggiungimento dei *goals*, i quali tengono in considerazione sia delle aree che necessitano una priorità di

intervento sia degli indicatori necessari per descrivere i progressi ottenuti durante il quinquennio:

1. Tutti i paesi riconoscono la vaccinazione come una priorità
2. I cittadini comprendono il valore del servizio di vaccinazione e dei vaccini e richiedono attivamente le vaccinazioni
3. I benefici della vaccinazione sono equamente distribuiti a tutte le persone mediante specifiche strategie innovative
4. Programmi di vaccinazione ben strutturati sono parte integrante di un sistema sanitario ben funzionante
5. I programmi di vaccinazione hanno accesso sostenibile a finanziamenti e a vaccini di alta qualità.

La visione complessiva dell'EVAP 2015-2020 è quindi una Regione Europea priva di malattie infettive prevenibili mediante vaccinazione, in cui tutti i paesi offrono un equo accesso ai servizi di vaccinazione e a vaccini di alta qualità, sicuri e a prezzi di mercato contenuti durante il corso della vita di ciascun cittadino.

1.3.3 Piano Nazionale Prevenzione Vaccinale 2017-2019 e Calendario Vaccinale

In Italia, per la realizzazione degli interventi di prevenzione è stato concepito il Piano Nazionale della Prevenzione (PNP) [22-29]; l'ultima versione del Piano (PNP 2014-2018) dedica un macroobiettivo alla riduzione della frequenza delle malattie infettive indicando quali siano gli interventi da attuare per raggiungere l'obiettivo: sorveglianza epidemiologica (per il monitoraggio dei casi e per la determinazione dei fattori di rischio), interventi di prevenzione (soprattutto immunizzazione), piani di organizzazione per emergenze infettive, promozione della comunicazione con la popolazione e della formazione degli operatori sanitari, coordinamento e integrazione fra i tre livelli istituzionali (centrale, regionale e locale) [29].

In ambito di prevenzione vaccinale la Conferenza Stato-Regioni con l'Intesa del 19 Gennaio 2017 ha approvato il Piano Nazionale Prevenzione Vaccinale 2017-2019 [30, 31] che si basa sui principi del PNP 2014-2018 e dell'EVAP 2015-2020 e sulla precedente edizione PNPV 2012-2014 [32] di cui condivide l'obiettivo generale, ovvero accordare le varie strategie vaccinali presenti nel Paese per garantire a tutta la popolazione (indipendentemente da luogo di residenza, reddito e livello socioculturale) i benefici

derivanti dalla vaccinazione, mediante l'equità nell'accesso a vaccini di elevata qualità e sicurezza, e a servizi di immunizzazione di livello eccellente.

Il PNPV 2017-2019 comprende ben 11 obiettivi, i primi due, in linea con i *goals* regionali dell'EVAP 2015-2020 e globali del GVAP 2011-2020 sono il mantenimento dello stato *polio-free* e il raggiungimento dello stato *morbillo-free* e *rosolia-free*. Per il primo traguardo viene dunque richiesto che siano raggiunte e mantenute coperture vaccinali (CV) $\geq 95\%$ per il vaccino anti-polio nei nuovi nati e nei bambini di 5-6 anni e CV $\geq 90\%$ per la 5° dose negli adolescenti (11-18 anni); il secondo obiettivo va a rafforzare le azioni intraprese nell'ambito del Piano Nazionale per l'Eliminazione del Morbillo e della Rosolia Congenita (PNEMoRC) avviato nel 2010 [33] e necessiterà di CV $\geq 95\%$ per la prima dose di MPR entro i 2 anni di età, per la seconda dose nei bambini di 5-6 anni e negli adolescenti suscettibili (11-18 anni), mantenute stabilmente alte nel tempo.

L'elemento principale del PNPV 2017-2019 è il Calendario Vaccinale che fissa i periodi in cui poter effettuare le vaccinazioni (obbligatorie e raccomandate) nell'arco della vita di una persona, a partire dai primi mesi dopo la nascita, proseguendo nell'infanzia e nell'adolescenza fino all'età adulta-senile. Tutti i vaccini contenuti nel suddetto calendario sono stati inseriti nel Decreto del Presidente del Consiglio dei Ministri per la definizione dei nuovi Livelli essenziali di assistenza (Lea), pertanto i soggetti che rientrano nelle categorie *target* per una data vaccinazione possono usufruirne gratuitamente [34]. Il calendario proposto presenta delle novità nell'offerta vaccinale, che si aggiungono alle "classiche" vaccinazioni previste nei programmi nazionali di immunizzazione ormai da molti anni (difterite, tetano, pertosse, polio, epatite B, *Haemophilus influenzae b*, pneumococco, morbillo, parotite, rosolia, meningococco C nei nuovi nati, HPV nelle ragazze adolescenti di 11 anni e influenza per le persone di età ≥ 65 anni), introducendo infatti per i nuovi nati le vaccinazioni anti-meningococco B, anti-rotavirus e anti-varicella, negli undicenni la vaccinazione anti-HPV anche per i maschi, il vaccino tetravalente anti-meningococco ACWY135 e il richiamo anti-polio negli adolescenti e nei 65enni la vaccinazione anti-pneumococcica (PCV13 coniugato e PPV23 polisaccaridico) e quella contro l'*Herpes zoster*.

Vaccino	0gg-30gg	3° mese	4° mese	5° mese	6° mese	7° mese	11° mese	13° mese	15° mese	⇔	6° anno	12°-18° anno	19-49 anni	50-64 anni	> 64 anni	Soggetti ad aumentato rischio	
DTPa**		DTPa		DTPa			DTPa				DTPa***	dTpaIPV	1 dose dTpa**** ogni 10 anni			(1)	
IPV		IPV		IPV			IPV				IPV						
Epatite B	EpB- EpB*	Ep B		Ep B			Ep B									(2)	
Hib		Hib		Hib			Hib									(3)	
Pneumococco		PCV		PCV			PCV								PCV+PPSV	(4)	
MPRV								MPRV			MPRV					(6)	
MPR								oppure MPR + V			oppure MPR + V					(5)	
Varicella																	
Meningococco C								Men C [§]				Men ACWY coniugato				(7)	
Meningococco B*^		Men B	Men B		Men B			Men B									
HPV												HPV ^o : 2-3 dosi (in funzione di età e vaccino)				(8)	
Influenza															1 dose all'anno	(9)	
Herpes Zoster															1 dose#	(10)	
Rotavirus		Rotavirus## (due o tre dosi a seconda del tipo di vaccino)															
Epatite A																(11)	

Figura 6: Calendario vaccinale proposto nel PNPV 2017-2019. Fonte: Ministero della Salute. Piano Nazionale Prevenzione Vaccinale 2017-2019 [31].
http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pubblicazioni_2571_allegato.pdf

	<u>Cosomministrare nella stessa seduta</u>
	<u>Somministrare in seduta separata</u>
	<u>Vaccini per categorie a rischio</u>

IPV = vaccino antipolio inattivato
Ep B = vaccino contro il virus dell'epatite B
Hib = Vaccino contro le infezioni invasive da Haemophilus influenzae tipo b
DTPa = vaccino antidifterite-tetano-pertosse acellulare
dTpa = vaccino antidifterite-tetano-pertosse acellulare, formulazione per adulti
dTpa-IPV = vaccino antidifterite-tetano-pertosse acellulare e polio inattivato, formulazione per adulti
MPRV = Vaccino tetravalente per morbillo, parotite, rosolia e varicella
MPR = Vaccino trivalente per morbillo, parotite, rosolia
V = Vaccino contro la varicella
PCV = Vaccino pneumococcico coniugato
PPSV = Vaccino pneumococcico polisaccaridico
MenC = Vaccino contro il meningococco C coniugato
MenB = Vaccino contro il meningococco B
HPV = Vaccino contro i papillomavirus
Influenza = Vaccino contro l'influenza stagionale
Rotavirus = Vaccino contro i rotavirus
Ep A = vaccino contro il virus dell'epatite A

Note:

*) Nei figli di madri HBsAg positive, somministrare entro le prime 12-24 ore di vita, contemporaneamente alle Ig specifiche, la prima dose di vaccino. Il ciclo va completato con la 2a dose a distanza di 4 settimane dalla prima; a partire dalla 3° dose, che deve essere effettuata dal 61° giorno, si segue il calendario con il vaccino combinato esavalente.

*^ Pur lasciando ai decisori territoriali la valutazione finale della schedula migliore in funzione dell'offerta vaccinale locale e delle sue tempistiche, si ritiene utile suggerire uno schema di inserimento della vaccinazione anti-meningococcica B. La sequenza di vaccinazione raccomandata è la seguente (i giorni sono ovviamente indicativi e non cogenti):

- Esavalente + Pneumococco ad inizio 3° mese di vita (61° giorno di vita)
- Meningococco B dopo 15 giorni (76° giorno)
- Meningococco B dopo 1 mese (106° giorno)
- Esavalente + Pneumo dopo 15 giorni, ad inizio 5° mese di vita (121° giorno)
- Meningococco B dopo 1 mese, ad inizio 6° mese di vita (151° giorno)
- Esavalente + Pneumococco a 11 mesi compiuti
- Meningococco B al 13° mese
- Meningococco C, sempre dopo il compimento dell'anno di vita

** La terza dose va somministrata ad almeno 6 mesi di distanza dalla seconda.

Figura 7: Legenda dei colori e note a corredo del Calendario Vaccinale 2017-2019. Fonte: Ministero della Salute. Piano Nazionale Prevenzione Vaccinale 2017-2019 [31]. http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pubblicazioni_2571_allegato.pdf

***) La quarta dose, l'ultima della serie primaria, va somministrata nel 5°-6° anno di età. È possibile anche utilizzare dai 4 anni la formulazione tipo adulto (dTpa) a condizione che i genitori siano adeguatamente informati dell'importanza del richiamo all'adolescenza e che siano garantite elevate coperture vaccinali in età adolescenziale.

****) I successivi richiami vanno eseguiti ogni 10 anni.

*****) In riferimento ai focolai epidemici degli scorsi anni, si ritiene opportuno, oltre al recupero dei soggetti suscettibili in questa fascia di età (catch-up) anche una ricerca attiva dei soggetti non vaccinati (mop-up).

^) Soggetti anamnesticamente negativi per varicella. Somministrazione di due dosi di vaccino a distanza di ≥ 1 mese l'una dall'altra.

^^) Bambini che inizino la vaccinazione nel corso del secondo anno di vita devono eseguire due dosi; qualora iniziassero nel corso del terzo anno è sufficiente una dose singola.

L'offerta di una dose di PCV contenente un numero di valenze maggiore è fortemente raccomandata a bambini mai vaccinati o che abbiano in precedenza completato il ciclo di vaccinazione con PCV7. Nel caso si tratti di bambini in condizioni di rischio sono raccomandate due dosi.

§) Dose singola. La vaccinazione contro il meningococco C viene eseguita per coorte al 13°-15° mese di vita. Per la seconda coorte a 12-14 anni, si raccomanda che una dose di vaccino Men ACWY coniugato sia effettuata sia ai soggetti mai vaccinati in precedenza, sia ai bambini già immunizzati nell'infanzia con Men C o Men ACWY. Nei soggetti a rischio la vaccinazione contro il meningococco C può iniziare dal terzo mese di vita con tre dosi complessive, di cui l'ultima, comunque, dopo il compimento dell'anno di vita.

°) Somministrare due dosi a 0 e 6 mesi (vaccino bivalente tra 9 e 14 anni; vaccino quadrivalente tra 9 e 13 anni); tre dosi ai tempi 0, 1, 6 (bivalente) o 0, 2, 6 mesi (quadrivalente) nelle età successive.

°°) Vaccinare con il vaccino stagionale, i soggetti a rischio previsti dalla Circolare Ministeriale.

#) Somministrazione raccomandata a una coorte di soggetti di 65 anni di età.

##) Raccomandato in offerta universale, co-somministrabile con tutti gli altri vaccini previsti per i primi mesi di vita.

Vaccinazioni per soggetti ad aumentato rischio (per i dettagli si rimanda alle apposite sezioni del presente Piano)

- (1) dTpa: numero di dosi a seconda che si tratti di ciclo di base o di booster; per le donne, al terzo trimestre di ogni gravidanza (idealmente 28a settimana)
- (2) Epatite B: 3 Dosi, *Pre Esposizione* (0, 1, 6 mesi) 4 Dosi: *Post Esposizione* (0, 2, 6 sett. + booster a 1 anno) o *Pre Esposizione imminente* (0, 1, 2, 12)
- (3) Hib: per soggetti a rischio di tutte le età mai vaccinati in precedenza - numero di dosi come da scheda tecnica a seconda dell'età
- (4) PCV: fino ai 5 anni, poi PCV/PPSV
- (5) MPR: 2 dosi ad almeno 4 settimane di distanza; a seconda dell'età e dello stato immunitario nei confronti della varicella, è anche possibile la co-somministrazione del vaccino trivalente MPR con quello monovalente contro la varicella o l'impiego del tetravalente MPRV
- (6) Varicella: 2 dosi ad almeno 4 settimane di distanza; a seconda dell'età e dello stato immunitario nei confronti di morbillo, parotite e rosolia, è anche possibile la co-somministrazione del vaccino monovalente contro la varicella con quello trivalente MPR o l'impiego del tetravalente MPRV
- (7) Ai soggetti ad aumentato rischio offrire, meningococco ACYW e meningococco B - numero di dosi come da scheda tecnica a seconda dell'età
- (8) HPV: tutte le età come da scheda tecnica - numero di dosi come da scheda tecnica a seconda dell'età
- (9) Influenza: tutte le età come da scheda tecnica - numero di dosi come da scheda tecnica a seconda dell'età
- (10) Herpes zoster: a partire dai 50 anni di età
- (11) EpA: numero di dosi come da scheda tecnica

Figura 8: Note a corredo del Calendario Vaccinale 2017-2019. Fonte: Ministero della Salute. Piano Nazionale Prevenzione Vaccinale 2017-2019 [31]. http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pubblicazioni_2571_allegato.pdf

1.3.4 Decreto Vaccini: reintroduzione in Italia dell'obbligatorietà di dieci vaccinazioni

Negli ultimi anni, a partire dal 2013, in Italia è stato registrato un progressivo calo di adesione al servizio vaccinale offerto, con un netto abbassamento delle coperture vaccinali, sia per i vaccini obbligatori che per quelli raccomandati, al di sotto della soglia del 95% raccomandata dall'OMS che garantirebbe l'immunità di gregge e dunque la protezione anche a quei soggetti che per particolari condizioni patologiche non possono vaccinarsi. I dati più preoccupanti sono stati raccolti per morbillo e rosolia le cui CV a 24 mesi sono passate dal 90,4 % all'85,3% dal 2013 al 2015, perdendo 5 punti percentuali [35, 36]. Numerosi sono i fattori che hanno concorso al fenomeno, come la perdita della consapevolezza da parte della popolazione della reale gravità delle malattie infettive vaccino-prevenibili, poiché oggi non si ha più esperienza di queste malattie grazie all'efficacia dei programmi di vaccinazione su larga scala; la difficoltà di comunicazione fra medici e pazienti nel risolvere gli eventuali dubbi riguardo alle vaccinazioni, la perdita di fiducia verso la comunità scientifica e quindi verso l'efficacia e la sicurezza dei vaccini; ed infine il rapido diffondersi (anche grazie ai *social media*) di movimenti di opposizione alle vaccinazioni e la divulgazione di notizie false, prive di qualsiasi evidenza scientifica, sui vaccini e sulle possibili reazioni avverse che potrebbero causare (come la falsa correlazione fra vaccino del morbillo e autismo). La conseguenza di questo fenomeno è stato un allarmante aumento dei casi per molte malattie infettive vaccino-prevenibili fino ad ora tenute sotto controllo, soprattutto in fasce d'età non tipiche (ad esempio negli adulti) e associate spesso a quadri clinici più gravi che hanno richiesto un maggior ricorso all'ospedalizzazione, o il verificarsi di casi di rosolia in gravidanza (con elevato rischio di rosolia congenita per il feto) ed un numero estremamente elevato di casi di morbillo, registrando 4991 casi e 4 decessi nel 2017 e 2248 casi nei primi 8 mesi del 2018 [37, 38].

La preoccupante situazione italiana ha richiesto l'adozione di misure urgenti ed adeguate per rendere effettivi gli obblighi vaccinali già vigenti (anti- difterite, tetano, epatite B e polio) ed introdurre di nuovi; nel Luglio 2017 è stato quindi emanato il Decreto Legge n.73 [39] successivamente modificato in Legge di conversione n. 119 del 31 luglio 2017 [40] che prevede 10 vaccinazioni obbligatorie (e gratuite) per i minori di età compresa fra 0 e 16 anni e per i minori stranieri non accompagnati, ovvero la vaccinazione anti-polio, anti-difterite, anti-tetanica, anti-epatite B, anti-pertosse, anti-

Haemophilus influenzae tipo B (vaccino esavalente); anti-morbillo, anti-rosolia, anti-parotite e anti-varicella (vaccino tetravalente MPRV o trivalente + monovalente MPR+V), da eseguire secondo i tempi riportati nel Calendario vaccinale nazionale in vigore, per ciascuna coorte. L'obbligatorietà della vaccinazione MPRV sarà soggetta a revisione ogni 3 anni sulla base dell'andamento epidemiologico dei casi delle quattro malattie e delle CV raggiunte; a queste 10 vaccinazioni se ne aggiungono altre 4 non obbligatorie (anti-meningococco B, anti-meningococco C, anti-pneumococco e anti-rotavirus) ad offerta attiva e gratuita da parte delle Regioni e delle Province autonome.

1.4 Monitoraggio dei programmi di vaccinazione

Per valutare l'andamento dei programmi di vaccinazione verso gli obiettivi previsti da diversi piani nazionali, regionali o globali, risulta di fondamentale importanza monitorare lo stato di immunità della popolazione. I principali indicatori utilizzati sono le coperture vaccinali, l'incidenza delle malattie infettive e la sorveglianza degli eventi avversi post-vaccinazione.

La **copertura vaccinale** (CV) è definita come la proporzione di soggetti vaccinati sul totale della popolazione target da vaccinare espressa in percentuale, il suo valore è compreso fra 0-100% e dà informazioni su quanto si è più o meno vicini al valore soglia di CV raccomandato per ciascuna malattia infettiva. Può essere espressa in funzione delle dosi somministrate per quei vaccini che prevedono un ciclo a più dosi ed in funzione dell'età della popolazione *target* (ad esempio: CV per DTP3 – ovvero 3° dose del vaccino difterite-tetano-pertosse – a 24 mesi). La stima delle CV può essere effettuata avvalendosi di sistemi routinari o amministrativi quali specifici portali online, come il portale epidemiologico sviluppato dal Centro Nazionale di Epidemiologia, Sorveglianza e Promozione della salute – CNESPS, o i registri di anagrafe vaccinale; ma anche mediante indagini ad hoc o studi sieroepidemiologici.

I registri di immunizzazione raccolgono i dati anagrafici e le vaccinazioni che una persona ha eseguito nel corso della vita, riportando informazioni sulla procedura di vaccinazione (vaccino somministrato, numero di dosi ricevute, data e sede di somministrazione...) e sul vaccino (nome commerciale, numero e serie di lotto, data di scadenza...). I primi registri vaccinali erano di tipo cartaceo, ma questo comportava una grande eterogeneità nella raccolta delle informazioni sia a livello locale che nazionale e dunque delle possibili

diverse stime di coperture vaccinali. Per questo motivo si è progressivamente passati all'utilizzo di registri vaccinali informatizzati che consentono di facilitare la gestione organizzativa e funzionale dei servizi vaccinali, di ridurre i tempi di gestione dei dati e quindi anche i costi pubblici e di migliorare la qualità e la precisione delle CV. A partire dal 2000 è iniziata anche in Italia la transizione da registri vaccinali cartacei a digitali; nel 2007, infatti il Ministero della Salute ha promosso il progetto "Mattoni" il quale includeva fra gli obiettivi primari la realizzazione di un registro di immunizzazione nazionale [41], a seguire anche altri piani nazionali come PNEMoRC, il PNP 2014-2018 e PNPV 2017-2019 hanno evidenziato l'importanza di raggiungere tale traguardo [29, 30, 33]. Uno studio condotto nel 2016 ha evidenziato che l'Italia si sta avviando verso la conclusione di questo passaggio all'adozione di anagrafi vaccinali computerizzate, è emerso infatti che 18 regioni su 21 hanno completato l'implementazione di sistemi informatizzati e di queste, 11 regioni usano a livello locale nelle proprie ASL lo stesso *software* di inserimento dei dati; 2 regioni hanno parzialmente completato la transizione e una sola regione si avvale ancora di registri non digitali. Nonostante i progressi fatti, si è ancora lontani dalla creazione di un registro di immunizzazione nazionale e permane quindi una certa variabilità delle informazioni disponibili sulle CV italiane [42].

Le indagini ad hoc consentono di raccogliere le informazioni sullo stato vaccinale in un campione della popolazione considerato rappresentativo della popolazione generale, misurando quindi le persone vaccinate nella popolazione *target* ma non i cicli di vaccinazione effettuati. La prima indagine campionaria condotta in Italia è stata ICONA (Indagine COpertura NAzionale) 1998 che aveva coinvolto 19 regioni italiane e permise di stimare la copertura vaccinale in bambini di età compresa fra i 12-24 mesi su tutto il territorio italiano [43], a distanza di 5 e 10 anni l'indagine si è ripetuta con gli studi ICONA 2003 ed ICONA 2008 che hanno visto la partecipazione di tutte le regioni italiane e delle due province autonome di Trento e Bolzano, con acquisizione delle CV anche per le adolescenti (sedicenni) nello studio del 2008 [44, 45].

Le indagini sieroepidemiologiche danno una rappresentazione istantanea dello stato di suscettibilità/immunità nella popolazione ad un determinato tempo, misurando la proporzione di soggetti immunizzati in una popolazione campione in base alla presenza di specifici anticorpi nei sieri prelevati dai soggetti arruolati nello studio. In particolare,

il monitoraggio dei livelli di immunità in una popolazione immunizzata contro malattie infettive prevenibili da vaccino consente di individuare la presenza di eventuali gruppi a rischio (come particolari fasce di età) e dunque suscettibili o debolmente immuni per specifiche malattie infettive, ma offre anche la possibilità di stimare la durata della protezione conferita dalla vaccinazione o dall'infezione naturale se vengono unitamente raccolte anche informazioni vaccinali (anno dell'ultima dose somministrata) e anamnestiche (anno della malattia).

L'andamento dell'**incidenza delle malattie infettive** nella popolazione ed eventuali spostamenti dell'età della prima infezione vengono valutati avvalendosi di sistemi di sorveglianza routinari; in Italia questo è affidato al Sistema informativo malattie infettive (Simi) che si basa sulla raccolta delle segnalazioni inviate dai medici e sui riepiloghi mensili di tutte le malattie infettive notificate a livello di ciascuna Azienda sanitaria locale [46, 47]. Oltre al Simi operano anche sistemi di sorveglianza speciale per specifiche malattie infettive come il Sistema Epidemiologico Integrato dell'Epatite Virale Acuta (SEIEVA) attivo in Italia dal 1985: mediante l'integrazione di informazioni derivanti da questionari epidemiologici e risultati di laboratorio, valuta l'incidenza delle cinque epatiti virali (A, B, C, Delta ed E) e permette di avere una loro conoscenza epidemiologica più approfondita a livello nazionale, inoltre monitorando costantemente l'andamento e la diffusione di ciascuna epatite consente la caratterizzazione dei diversi agenti eziologici virali [48].

La vaccinovigilanza comprende le varie attività di farmacovigilanza relative alla raccolta delle segnalazioni spontanee di un **evento avverso post-vaccinazione** (*Adverse Events Following Immunization – AEFI*) inviate da medici, operatori sanitari o pazienti, ovvero di qualsiasi effetto indesiderato clinico che si manifesta dopo una vaccinazione e che non necessariamente presenta una relazione causale con la somministrazione del vaccino; dunque le segnalazioni inserite nei sistemi di vigilanza passiva, sono dei sospetti che necessitano di ulteriori specifici approfondimenti per poterne eventualmente determinare una correlazione causa-effetto [49]. In Italia è attiva dal 2001 la Rete Nazionale della Farmacovigilanza (Rnf) che gestisce la raccolta e l'analisi delle segnalazioni di sospette reazioni avverse a qualsiasi farmaco, inclusi i vaccini [50].

L'integrazione delle informazioni ricavate da questi tre principali indicatori fornisce un importante supporto ai decisori e alle autorità di Sanità Pubblica per indirizzarli verso efficaci strategie di vaccinazione.

1.5 Epatite B

L'epatite B è un'infezione che colpisce il fegato e può svilupparsi sia in forma acuta che cronica, l'agente eziologico è il virus dell'epatite B (HBV) ed è responsabile della forma più grave fra le diverse epatiti virali. Questa patologia rappresenta ancora oggi uno dei maggiori problemi di Sanità Pubblica a livello mondiale: l'OMS ha stimato che nel 2015 circa 257 milioni di persone (il 3,5% della popolazione mondiale) soffrissero di infezione cronica da HBV, causando 887 000 decessi prevalentemente per le complicanze associate all'infezione (come cirrosi epatica o cancro al fegato). Il virus è altamente contagioso e si trasmette attraverso il contatto con sangue o fluidi biologici di una persona infetta, il virus è in grado di sopravvivere nell'ambiente al di fuori del corpo umano, per almeno 7 giorni, pertanto rappresenta un importante rischio professionale per gli operatori sanitari. A partire dal 1982 sono disponibili vaccini con un'efficacia stimata del 95% in grado di prevenire l'infezione e lo sviluppo della forma cronica della malattia e le complicanze associate [51, 52].

Il virus dell'epatite B è un virus a DNA, appartenente alla famiglia dell'Hepadnaviridae (genere *Orthohepadnavirus*), è costituito da un **nucleocapside** interno, formato dall'antigene **core** dell'epatite B (**HBcAg**), che circonda il genoma a doppia elica incompleta di DNA a cui si trova associata la **DNA-Polimerasi dell'HBV**, e da un **envelope** lipoproteico esterno contenente l'antigene di superficie dell'epatite B (**HBsAg**) e le proteine pre-S1 e pre-S2 [53]. Il genoma conta circa 3200 basi ed è caratterizzato da quattro regioni ORF (*Open Reading Frames*) deputate alla codifica delle diverse proteine del virus [54]:

- ORF S (pre-S/S): codifica le proteine dell'*envelope*, sintetizzate in tre polipeptidi di HBsAg di differente grandezza (S: *small*; M: *medium*; L: *large*)
- ORF C (pre-C/C): codifica l'antigene del core HBcAg e l'antigene HBeAg (una proteina solubile prodotta transitoriamente durante la fase di intensa attività replicativa del virus, sia in caso di infezione acuta che cronica, e secreta nel siero dalla cellule infette)

- ORF P (gene P): codifica la DNA-polimerasi
- ORF X: codifica l'antigene HBx, una proteina che regola la replicazione virale ed è potenzialmente oncogena

La trasmissione del virus può essere sia di tipo orizzontale, per via parenterale apparente, parenterale inapparente e sessuale o verticale da madre a figlio. La trasmissione parenterale apparente si verifica quando si viene a contatto con sangue infetto: un tempo le trasfusioni di sangue o di emoderivati hanno rappresentato una delle principali modalità di trasmissione del virus, ma oggi è un evento estremamente raro, soprattutto nei paesi industrializzati, grazie ai numerosi controlli di *screening* obbligatori, tuttavia lo scambio di siringhe in comunità di tossicodipendenti o punture accidentali con aghi infetti nel personale sanitario rappresentano ancora un rischio di contagio. I rapporti sessuali non protetti sono la via di trasmissione più comune soprattutto nei paesi occidentali, infatti il virus si ritrova anche in fluidi biologici come sperma, eiaculato e secrezioni vaginali. Da non sottovalutare anche il rischio di contagio per via parenterale inapparente mediante utilizzo condiviso di strumenti di igiene personale (come rasoio, lamette o forbici) o di strumentazione non sterilizzata (aghi per tatuaggi, per piercing o per agopuntura), poiché il virus è in grado di sopravvivere a lungo anche sulle superfici esterne. La trasmissione verticale da madre a figlio è invece ancora molto frequente nelle zone ad alta endemia, dove una quota rilevante di donne in stato di gravidanza è portatrice di HBV; generalmente la trasmissione del virus avviene durante il parto e più raramente durante la gravidanza per via transplacentare. Nel 1984 fu dimostrato che nei neonati nati da madri portatrici la somministrazione del vaccino e delle immunoglobuline specifiche anti-HBs al momento della nascita è in grado di conferire una protezione quasi completa nei confronti dell'infezione [54]; inoltre il parto cesareo riduce la trasmissione del virus da madre HBsAg positiva al suo neonato [55]. Infine, nella popolazione pediatrica di aree iperdemiche è possibile che il virus sia occasionalmente trasmesso mediante contatto stretto fra lesioni cutanee di un bambino infetto e le mucose di un bambino suscettibile. Inoltre, nonostante si possa ritrovare il virus anche nel latte delle donne infette, l'allattamento al seno non costituisce un rischio di trasmissione per i neonati correttamente immunizzati [54]. Pertanto i soggetti maggiormente a rischio di contagio sono tossicodipendenti, chi ha rapporti sessuali non

protetti, gli operatori sanitari che lavorano a contatto con persone infette o nei laboratori in cui vengono manipolati campioni biologici come sangue o suoi derivati, i contatti familiari e i partner di persone infette e tutti quei soggetti, che per professione, fanno un uso quotidiano di aghi, siringhe, strumenti per *manicure* o *pedicure* che non vengono correttamente sterilizzati [56].

Quando un soggetto viene infettato, il virus dell'HBV è in grado di penetrare negli epatociti attraverso l'interazione con un recettore aspecifico, una volta dentro il citoplasma perde l'*envelope* esterno e il capsido, questo favorisce la localizzazione del genoma del virus in prossimità della membrana nucleare e il DNA del virus penetra dentro il nucleo degli epatociti. All'interno del nucleo si rompe il legame covalente fra DNA-Polimerasi e DNA e l'enzima completa il filamento incompleto, formando una molecola di DNA circolare superavvolta, denominata cccDNA (*Covalently Closed Circular DNA*), che è in grado di legarsi a proteine istoniche e non istoniche che ne regolano l'attività trascrizionale. Una RNA polimerasi – DNA dipendente dell'epatocita trascrive i geni virali e inizia la produzione di mRNA, che vengono trasportati nel citoplasma per la traduzione in proteine virali, e di RNA progenomico che viene inserito nel capsido. Grazie alla polimerasi virale, che funge anche da trascrittasi inversa, l'RNA progenomico viene retrotrascritto, formando un ibrido DNA-RNA; infine una RNAasi-H degrada il filamento ad RNA, e la DNA polimerasi virale sintetizza la catena mancante. Il ciclo virale si conclude con l'assemblaggio dei virioni maturi che vengono rilasciati nel circolo [54].

La risposta immunitaria sviluppata dal soggetto è prevalentemente di tipo cellulomediato con espansione transitoria dei linfociti CD4+ che stimolano l'attività dei linfociti CD8+ sia verso un effetto citolitico diretto, causando danno epatico, sia verso un effetto adiuvante nella produzione di anticorpi diretti contro l'antigene core; l'efficienza della risposta immunitaria adattativa determina l'evoluzione dell'infezione acuta verso la completa guarigione (se intensa, policlonale e multispecifica) oppure verso la cronicizzazione (quando risulta essere debole). Gli anticorpi anti-HBs diretti contro l'antigene di superficie del virus dell'epatite B, invece, non contribuiscono all'eliminazione del virus durante la fase acuta, ma ne prevengono la diffusione [54].

Il periodo di incubazione per l'epatite B acuta può variare molto, in media è di circa 75 giorni, ma può oscillare fra i 30 e 180 giorni [57] e l'infezione da HBV può evolvere in

differenti decorsi clinici, dipendendo dalla carica virale e dalla diversa reazione immunitaria dell'ospite, che ha un ruolo chiave nella patogenesi della malattia epatica [58]. Nei soggetti immunologicamente più reattivi l'infezione da HBV tende a causare epatite acuta, che rappresenta la conseguenza biologica del tentativo dell'organismo di liberarsi dal virus; ma nella maggior parte delle persone l'infezione evolve in modo sub-clinico e asintomatico verso la cronicizzazione, senza causare la malattia [59]. Forme acute di epatite B, caratterizzate da una forte infiammazione e da necrosi epatocellulare si verificano indicativamente nell'1% delle infezioni perinatali, in circa il 10% delle infezioni nei bambini di 1-5 anni e nel 30% delle infezioni nei soggetti di età superiore a 5 anni; si possono anche verificare casi di epatite B fulminante, evento raro per i neonati e i bambini, ma negli adulti rappresenta lo 0,5-1% dei casi acuti, con un tasso di letalità del 20-33% [60, 61]. Il tasso di letalità è dell'1% ma aumenta nelle persone di età superiore ai 40 anni. Nell'adulto la malattia cronicizza nel 5-10% dei casi ed il rischio di cronicizzazione aumenta al diminuire dell'età della prima infezione, infatti, nei neonati contagiati poco dopo la nascita si verifica circa 9 volte su 10. Nel 20% dei casi l'epatite B cronica può progredire in cirrosi epatica nell'arco di circa 5 anni ma un'altra complicanza frequente è rappresentata dall'epatocarcinoma [56], infatti è la causa del 78% dei casi di tumore primitivo al fegato [62].

1.5.1 Marcatori sierologici

Le analisi sierologiche per la ricerca degli specifici antigeni virali (HBsAg e HBeAg) e degli anticorpi prodotti in seguito al contatto con l'HBV (anti-HBs, anti-HBc totali, IgG anti-HBc e IgM anti-HBc) sono fondamentali per la diagnosi di infezione da HBV e grazie alla titolazione di questi diversi marcatori molecolari è possibile caratterizzare le varie fasi della patologia e definire se un soggetto si trova nella fase di infezione acuta, di guarigione oppure se di portatore cronico [54]:

- **HBsAg:** è il primo marcatore sierologico a comparire, persiste per tutta la durata della malattia acuta e scompare entro 6 mesi dall'esordio nei soggetti che non evolvono verso la cronicizzazione
- **anti-HBs:** questa tipologia di anticorpi compare quando non è più rilevabile nel sangue l'antigene di superficie, in linea teorica si possono rilevare per tutta la

durata della vita di una persona che è stata infettata o che ha effettuato la vaccinazione, pertanto è indicatore immunologico di protezione

- **anti-HBc:** è rilevabile nel siero dopo la comparsa dell'antigene di superficie e rimane titolabile per un lungo periodo di tempo. Le IgM anti-HBc predominano nella fase acuta della malattia, mentre le IgG anti-HBc sono tipiche della convalescenza
- **HBeAg:** l'antigene e si può trovare nel sangue contemporaneamente o poco dopo all'antigene HBsAg durante la fase replicativa del virus negli epatociti. In caso di completa guarigione, il titolo dell'HBeAg si annulla e diventa rilevabile l'anticorpo anti-HBe.

1.5.2 Prevenzione dell'epatite B

Dal 1982 sono disponibili vaccini con un'efficacia stimata del 95% nel prevenire sia l'infezione da HBV che le sue complicanze patologiche ed è stato dunque il primo vaccino in grado di proteggere l'uomo da uno dei più pericolosi tumori (l'epatocarcinoma primitivo) [63]. Il primo vaccino anti-HBV sviluppato era costituito da particelle sub-virali purificate dal plasma di soggetti con infezione cronica, successivamente a partire dal 1986 è stato sostituito da vaccini ottenuti mediante le tecniche di DNA ricombinante contenenti la frazione S (*small*) dell'antigene di superficie che si auto-assembla in particelle di HBsAg [57]. Più recentemente sono diventati disponibili i cosiddetti vaccini anti-epatite B di "terza generazione" che possono contenere la proteina maggiore (*large*) dell'HBsAg, gli antigeni pre-S1 e pre-S2 o nuovi adiuvanti per renderli più immunogenici; i vaccini contenenti gli epitopi pre-S1 e pre-S2 tendono ad aumentare la risposta immunitaria in soggetti immunodepressi o nelle persone *non-responder* [53].

I vaccini attualmente in commercio sono disponibili sia nella formulazione monovalente (per la somministrazione alla nascita o per la vaccinazione di adulti di particolari categorie a rischio) o, nel caso della vaccinazione pediatrica, in combinazione con altri cinque vaccini in una formulazione esavalente che contiene anche difterite-tetano-pertosse (DTP), *Haemophilus influenzae* di tipo b (Hib) e il vaccino inattivato anti-polio (IPV); inoltre è disponibile anche un vaccino combinato anti-epatite B e anti-epatite A [60, 64-66]. Sulla base delle raccomandazioni deliberate dall'OMS per assicurare la qualità, la sicurezza e l'efficacia del vaccino anti-epatite B [67], le diverse aziende

farmaceutiche hanno sviluppato formulazioni vaccinali a differenti concentrazioni antigeniche, che variano anche in rapporto alla popolazione *target* della vaccinazione: quindi la dose pediatrica standard può contenere 5-10µg di HBsAg; quella per gli adulti 10-20µg di HBsAg e un dosaggio più alto a 40µg di HBsAg è indicato per i soggetti immunodepressi o in dialisi [57].

L'OMS raccomanda che tutti i bambini ricevano il vaccino anti-epatite B il prima possibile, preferibilmente entro 24 ore dalla nascita. Per completare il ciclo vaccinale primario, la dose effettuata alla nascita, dovrebbe essere seguita da altre 2 o 3 somministrazioni del vaccino, seguendo queste due possibili soluzioni [51]:

- Una schedula a 3 dosi del vaccino anti-HBV, con la prima dose monovalente somministrata alla nascita e la seconda e la terza (monovalente o come vaccino combinato) da effettuare durante la prima e la terza seduta per vaccino DTP;
- Una schedula a 4 dosi in cui la prima dose monovalente somministrata alla nascita è seguita da 3 dosi di vaccino monovalente o combinato generalmente effettuate in concomitanza con altre vaccinazioni routinarie dell'infanzia.

Nel caso di ritardo del ciclo primario di immunizzazione nei bambini o di vaccinazione in adolescenti e adulti, sono raccomandate 3 dosi di vaccino anti-epatite B con la seconda dose da somministrare dopo almeno un mese e la 3° dose dopo 6 mesi dalla prima [57].

La conclusione dell'intero ciclo primario di vaccinazione induce titoli anticorpali protettivi in almeno il 95% dei neonati, bambini e giovani adulti; la durata stimata della protezione è di almeno 20 anni e probabilmente per tutta la vita, per questo motivo l'OMS non raccomanda una vaccinazione di richiamo in persone che hanno completato il ciclo primario di 3 dosi [51, 52, 57]. L'efficacia protettiva del vaccino dipende dalla presenza nel siero delle persone immunizzate degli anticorpi IgG verso l'antigene di superficie (anti-HBs): una concentrazione ≥ 10 mUI/ml misurata 1-2 mesi dopo l'ultima dose del ciclo primario è considerata un *marker* sierologico attendibile per una protezione *long-life* verso l'infezione da HBV [68].

È stato confermato dal *Global Advisory Committee on Vaccine Safety* che i diversi vaccini anti-epatite B distribuiti in tutto il mondo hanno eccellenti profili di sicurezza: generalmente si verificano reazioni avverse lievi, come dolore locale, mialgia o febbre

transitoria, prevalentemente entro 24 ore dalla somministrazione del vaccino e tendono ad essere più frequenti negli adulti (30%) che nei bambini (<10%) [69]. L'incidenza stimata delle reazioni avverse gravi per anafilassi nella popolazione dei soggetti totali riceventi il vaccino è estremamente bassa, di circa 1,1 casi su un milione di dosi del vaccino (95% CI: 0,1-3,9) [69, 70]. Il vaccino risulta essere controindicato solo per le persone che hanno una storia documentata di gravi reazioni allergiche a un qualsiasi componente del vaccino [69].

Inoltre, l'implementazione dei controlli di sicurezza e degli *screening* di qualità sul sangue e sui derivati ematici donati e utilizzati nelle trasfusioni rappresenta un ulteriore contributo nella prevenzione della trasmissione dell'HBV. Nel 2013 è stato stimato che a livello globale circa il 97% delle donazioni di sangue è stato sottoposto a *screening* assicurandone la qualità. Infine anche le pratiche di iniezione sicura, con l'eliminazione delle iniezioni non necessarie e non sicure, sono delle efficaci strategie volte ad impedire la trasmissione del virus dell'epatite B: a livello mondiale, le iniezioni non sicure sono diminuite dal 39% nel 2000 al 5% nel 2010.

Per quanto riguarda la trasmissione del virus mediante rapporti sessuali, è raccomandato adottare pratiche sessuali più sicure, utilizzando barriere protettive (come il preservativo) e riducendo al minimo il numero dei partner occasionali [51].

1.5.3 Impatto della vaccinazione anti-epatite B

Importanti progressi nella risposta globale alle epatiti virali sono stati raggiunti grazie all'estensione della vaccinazione anti-epatite B nei programmi di immunizzazione di routine dei vari paesi, permettendo quindi il controllo della diffusione del virus dell'HBV e di ridurre drasticamente il numero delle nuove infezioni nella popolazione. A partire dalla fine degli anni '80, le coperture vaccinali a livello globale hanno iniziato ad aumentare, seppure piuttosto lentamente, per poi subire un netto innalzamento nel primo decennio del 2000 (Figura 9): nel 2016 sono stati contati 186 paesi di tutto il mondo (97%) che prevedono la vaccinazione anti-epatite B nei loro programmi di immunizzazione nazionale con una copertura vaccinale globale per la terza dose del vaccino dell'84% (Figura 10) [71]. Questo ha principalmente diminuito la trasmissione dell'HBV nella popolazione infantile (fino a 5 anni di età) ed infatti si è assistito ad una riduzione dal 4,7% all'1,3% della prevalenza dell'HBV in questa fascia d'età; tuttavia la

CV per la prima dose alla nascita continua a rimanere troppo bassa a livello globale attorno al 39% [72], e solo il 53% dei paesi, al gennaio del 2018, ha introdotto la vaccinazione anti-epatite B alla nascita (Figura 11) [73]. In assenza quindi della condivisione universale circa l'introduzione della vaccinazione anti-epatite B alla nascita o di altri efficaci interventi di prevenzione, la trasmissione dell'HBV da madre a figlio rimarrà la principale causa di epatite B cronica nella popolazione quando un neonato infetto diverrà adulto [72], continuando quindi a essere un costo rilevante a livello sanitario.

Prima che il vaccino anti-epatite B fosse introdotto, la trasmissione del virus era iperendemica nella maggior parte dei paesi della Regione Occidentale del Pacifico, con una prevalenza stimata superiore all'8% nei bambini di cinque anni di età; grazie all'implementazione del vaccino nei programmi di immunizzazione nazionali è stato possibile evitare 7 milioni di decessi e 37,6 milioni di casi di infezioni croniche per HBV nei bambini nati fra il 1990 e il 2014 [20] con effetto di una netta diminuzione della prevalenza dell'HBsAg a valori minori dell'1% nei bambini nati nel 2012 per 24 dei 36 paesi della Regione Occidentale del Pacifico [74].

Global Immunization 1989-2016, 3rd dose of Hepatitis B (HepB3) coverage in infants global coverage at 84% in 2016

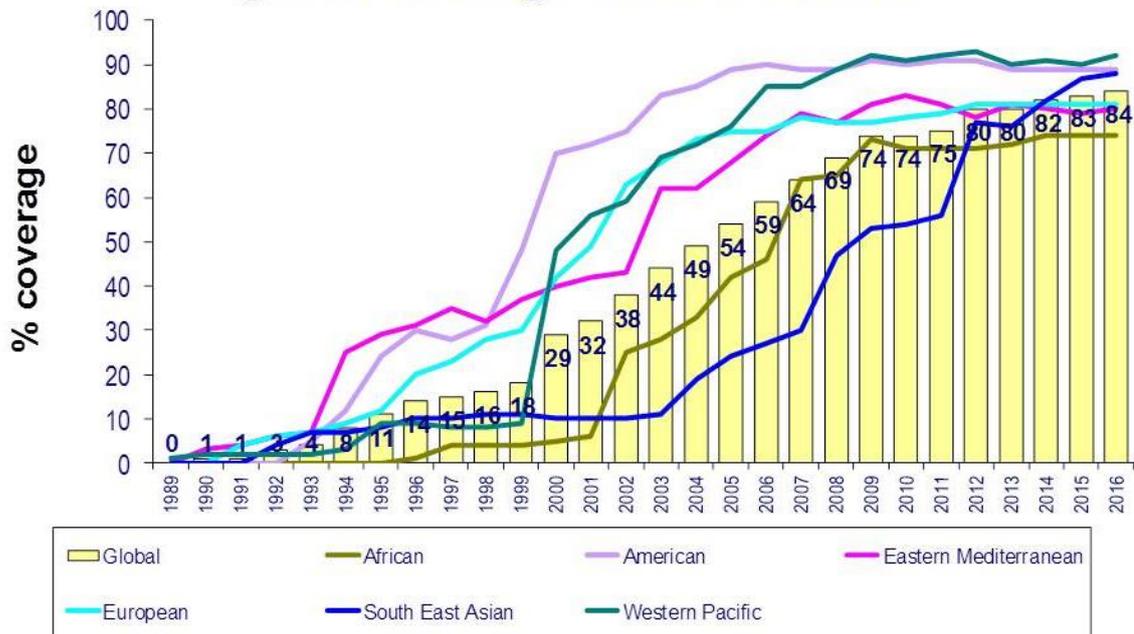
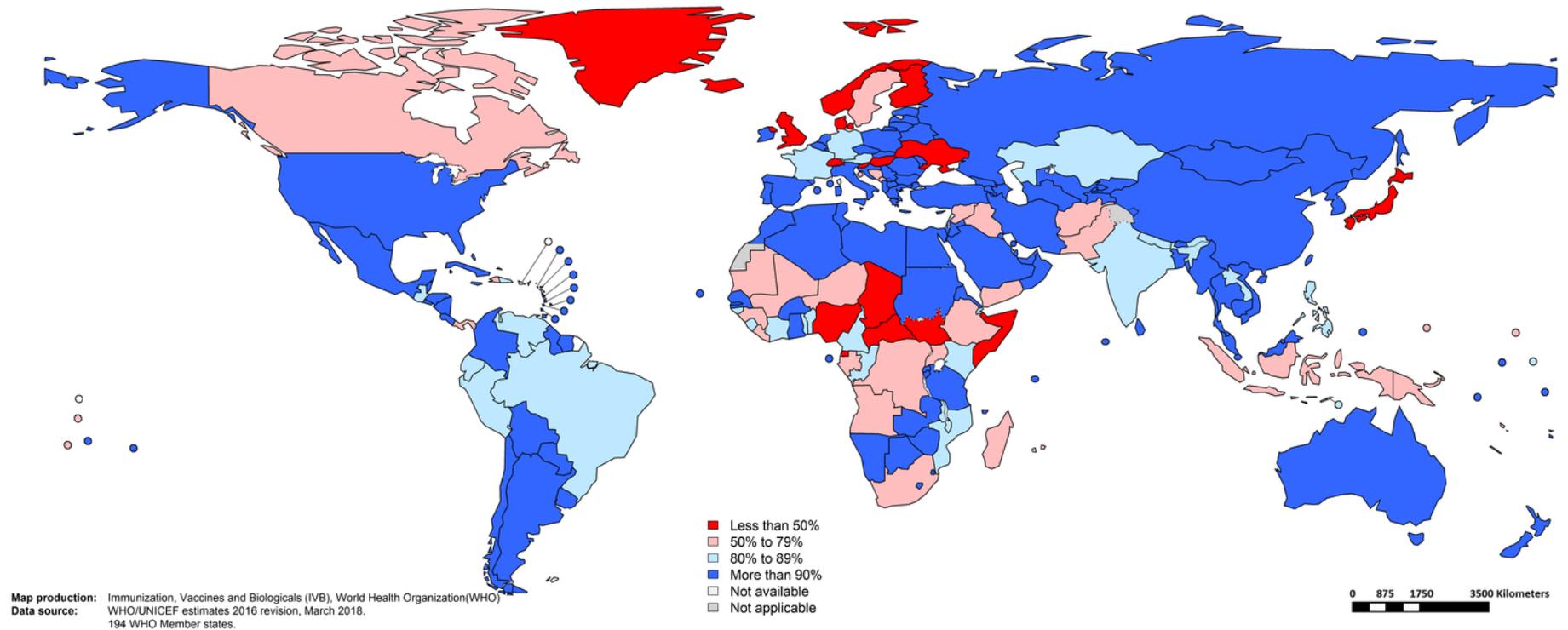


Figura 9: Coperture vaccinali a livello globale per la 3^o dose del vaccino anti-epatite B nella popolazione pediatrica, dal 1989 al 2016 [71]. Fonte: WHO/UNICEF: http://www.who.int/immunization/monitoring_surveillance/burden/vpd/surveillance_type/passive/hepatitis/en

Immunization coverage with 3rd dose of hepatitis B containing vaccines

2016



Disclaimer:

The boundaries and names shown and the designations used on this map do not imply the expression of any opinion whatsoever on the part of the World Health Organization concerning the legal status of any country, territory, city or area nor of its authorities, or concerning the delimitation of its frontiers or boundaries. Dotted and dashed lines on maps represent approximate border lines for which there may not yet be full agreement.
World Health Organization, WHO, 2018. All rights reserved



Figura 10: Copertura vaccinale per la terza dose del vaccino anti-epatite B nel mondo stimate per l'anno 2016 [71]. Fonte: WHO; Marzo 2018.
http://www.who.int/immunization/monitoring_surveillance/burden/vpd/surveillance_type/passive/hepb3_1985_2016.gif?ua=1

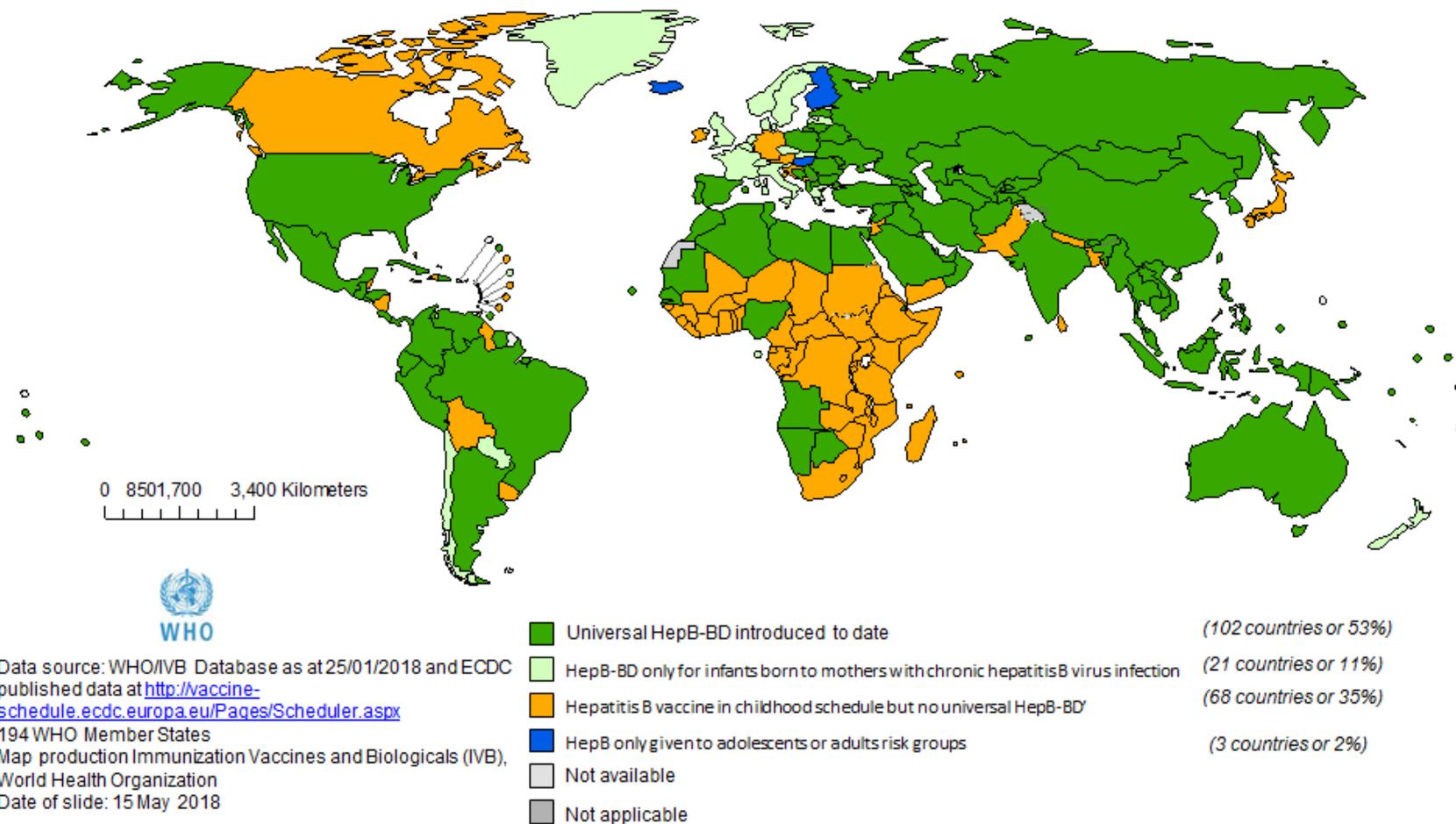


Figura 11: Strategie di vaccinazione anti-epatite B alla nascita a livello globale. Aggiornamento al gennaio 2018 [73]. Fonte WHO. Immunization, Vaccines and Biologicals. Data, statistics and graphics: http://www.who.int/immunization/monitoring_surveillance/data/en/

Uno degli obiettivi previsti nel documento *Global Vaccine Action Plan 2011-2020* dell'OMS è raggiungere coperture vaccinali del 90% a livello nazionale e dell'80% in ogni distretto (o nell'equivalente unità amministrativa) per tutti i vaccini inclusi nei programmi di vaccinazione nazionale entro il 2020 [18], questa direttiva è stata recepita a livello europeo con la definizione di mantenere il controllo dell'infezione da HBV come *goal n. 3 dell'European Vaccine Action Plan 2015-2020* [21]. Trentuno paesi dell'Unione Europea hanno inserito la vaccinazione anti-epatite B nei loro programmi di immunizzazione nazionale, con raccomandazioni che variano da paese a paese. La Norvegia è il solo stato a non prevedere l'immunizzazione al momento della nascita, mentre la Bulgaria è l'unico paese che ha introdotto l'obbligatorietà della vaccinazione a tutti i nati entro 24 ore; in Lituania, Portogallo e Romania la prima dose del ciclo di immunizzazione verso l'epatite B è raccomandata entro 24 ore dalla nascita. La vaccinazione con schedula a 3 dosi da completare entro un anno di età del bambino è obbligatoria in soli 7 paesi, ovvero Bulgaria, Croazia, Repubblica Ceca, Francia, Italia, Polonia e Slovacchia. La Slovenia è la sola nazione ad aver slittato il ciclo di immunizzazione di base a 3 dosi verso l'età prescolare, offrendolo ai bambini di 5-6 anni di età; tuttavia, in caso di infante nato da madre HBsAg positiva la vaccinazione anti-epatite B è obbligatoria e la prima dose deve essere somministrata entro 12 ore dal parto (sarà poi seguita da altre tre dosi a 1, 2 mesi di vita e 1 anno di età) [75].

Il Regno Unito ha introdotto la vaccinazione anti-epatite B negli anni '80, offrendola al momento della nascita esclusivamente ai bambini nati da madri con epatite B. Solo nell'autunno del 2017 si è allineato con le direttive dell'OMS inserendo la vaccinazione nel calendario di immunizzazione di routine per l'infanzia e offrendo il vaccino anti-epatite B (in formulazione esavalente DTPa-IPV-Hib-HepB) a tutti i bambini con una scheda a 3 dosi da somministrare a 8, 12 e 16 settimane di vita [76]

In Italia, l'obiettivo stabilito dal Piano Nazionale Prevenzione Vaccinale 2017-2019 per il controllo dell'epatite B è raggiungere e mantenere una CV $\geq 95\%$ nei nuovi nati [31].

Uno studio relativo all'impatto economico e clinico della vaccinazione universale di bambini e adolescenti contro l'epatite B durante i primi 20 anni della sua introduzione in Italia (1991-2010), ha messo in luce che è stato possibile evitare 127 000 infezioni, 14 600 casi di epatite acuta, 100 casi di epatite cronica, 70 cirrosi compensate, 5 cirrosi

scompenstate, 64 epatocarcinomi primitivi e 17 trapianti di fegato. Oltre all'importante aspetto clinico, è stato evidenziato anche che la vaccinazione, nello stesso arco di tempo, ha avuto un notevole impatto economico, consentendo di risparmiare circa 81 milioni di Euro ed effettuando poi una proiezione al 2059 si potrebbe ottenere un risparmio complessivo di circa 1 miliardo di Euro sia per il Servizio Sanitario Nazionale che per la società italiana [77].

1.5.4 La vaccinazione anti-epatite B in Italia

In Italia la vaccinazione anti-epatite B è diventata obbligatoria nel 1991 (Legge n. 165 del 27 Maggio 1991 [78]) per tutti i nuovi nati nel 1° anno di vita e per i primi 12 anni di applicazione della legge l'obbligo è stato applicato anche agli adolescenti nel corso del 12° anno di età. Nel 2003, come previsto dalla legge, al ricongiungimento delle 2 coorti *target* del programma vaccinale (con quindi da ritenersi vaccinata la popolazione di età compresa fra 0 e 24 anni) la vaccinazione nei dodicenni è stata sospesa e si è proseguito soltanto con la vaccinazione obbligatoria nei nuovi nati. Nel 2017 per effetto del Decreto Vaccini la vaccinazione anti-epatite B è tornata obbligatoria per tutti i minori di età compresa fra 0 e 16 anni [40].

Il calendario vaccinale per la vita del PNPV 2017-2019 [31] prevede la somministrazione di 3 dosi del vaccino anti-epatite B in formulazione esavalente (DTPa-IPV-Hib-HBV), co-somministrato con il vaccino anti-pneumococcico, a tutti i nuovi nati al 3°, 5° e 11° mese di vita. Nei figli nati da madri HBsAg positive è raccomandato somministrare entro le prime 12-24 ore di vita la prima dose di vaccino e contemporaneamente le immunoglobuline specifiche; il ciclo va completato con la seconda dose a distanza di 4 settimane dalla prima e a partire dalla 3° dose, che deve essere effettuata dal 61° giorno, si può seguire il calendario con il vaccino combinato esavalente.

La vaccinazione è raccomandata anche a tutti gli adulti non precedentemente vaccinati e appartenenti a particolari categorie a rischio di contrarre l'infezione da HBV per condizioni patologiche, professionali o per particolari comportamenti (Tabella 1).

Tabella 1: Soggetti a rischio di aumentata infezione da HBV per patologia, esposizione professionale o particolari comportamenti/condizioni, a cui è raccomandata la vaccinazione anti-epatite B. Fonte: Ministero della Salute. Piano Nazionale Prevenzione Vaccinale 2017-2019 [31].

CATEGORIE A RISCHIO		
Per patologia	Per esposizione professionale	Per particolari comportamenti o condizioni
- Pazienti politrasfusi ed emofiliaci	- Operatori sanitari	- Conviventi e contatti di soggetti HBsAg positivi
- Soggetti affetti da lesioni eczematose croniche o psoriasiche alle mani	- Studenti dei corsi dell'area medico-sanitaria	- Tossicodipendenti
- Soggetti con infezione da HIV	- Personale di laboratorio	- Vittime di punture accidentali con aghi potenzialmente infetti
- Soggetti affetti da epatopatia cronica, in particolare se correlata ad infezione da HCV	- Personale addetto alla lavorazione degli emoderivati	- Detenuti
- Soggetti conviventi con persone affette dalle condizioni sopraelencate	- Personale di istituti che ospitano persone con disabilità mentali e fisiche	- Soggetti dediti alla prostituzione
	- Personale delle Forze Armate Italiane	- Uomini che fanno sesso con uomini
	- Addetti alla gestione dei rifiuti	- Donatori di sangue appartenenti a gruppi sanguigni rari
	- Tatuatori e <i>body piercers</i>	
	- Addetti al lavaggio di materiali potenzialmente infetti	
	- Addetti ai servizi cimiteriali e funebri	

La vaccinazione per i soggetti ad aumentato rischio può seguire tre schedule di immunizzazione:

- In caso di pre-esposizione: 3 dosi a 0, 1, 6 mesi;
- In caso di post-esposizione: 4 dosi a 0, 2, 6 settimane + *booster* ad 1 anno;
- In caso di pre-esposizione imminente: 4 dosi a 0, 1, 2 e 12 mesi

L'Agenzia Italiana del Farmaco ha autorizzato vaccini anti-epatite B sia in formulazione monovalente che esavalente combinati con difterite, tetano, pertosse acellulare, *Haemophilus influenzae* di tipo B, poliovirus inattivato (DTPa-Hib-HBV-IPV).

I vaccini monovalenti sono costituiti dall'antigene di superficie dell'epatite B ottenuto mediante tecniche di DNA ricombinante in cellule di lievito (*Saccharomyces cerevisiae*) adsorbito su sali di alluminio, a seconda della popolazione *target* (in relazione alla fascia d'età o condizione patologica) è raccomandato l'uso di vaccini con diversa concentrazione antigenica [79-81]:

- 0-15 anni: contenenti 5-10µg di HBsAg/0,5 ml per dose (ENGERIX B 10 µg/0,5 ml e HBVXPRO 5 µg/0,5 ml);

- ≥16 anni: 10-20 10µg di HBsAg/ml per dose (ENGERIX B 20 µg/1 ml e HBVXPRO 10 µg/1 ml)
- ≥15 anni affetti da insufficienza renale (inclusi soggetti in pre-dialisi ed emodialisi): 20 µg/0,5 di HBsAg/ml per dose (Fendrix)
- Adulti in pre-dialisi o sottoposti a dialisi: 40 µg/1 ml di HBsAg per dose (HBVXPRO 40 µg/1 ml).

I tre vaccini anti-epatite B risultano essere altamente immunogenici nei pazienti sani, con un tasso di siero protezione (titoli anticorpali anti-HBs ≥ 10 UI/ml un mese dopo l'ultima dose) ≥96% [79, 80] e poco più bassi (90%) nei soggetti in pre-dialisi o in emodialisi [81]. Confermati anche i profili di sicurezza dei tre vaccini con reazioni avverse di lieve entità (sistemiche o localizzate al sito di iniezione) come eventi a maggior frequenza (Tabella 2).

Tabella 2: Riepilogo dell'efficacia e della sicurezza dei vaccini anti-epatite B monovalenti Engerix B, HBVAXPRO e Fendrix [79-81].

	ENGERIX B (Glaxosmithkline biologicals S.A.)		HBVAXPRO (MSD Vaccines)	FENDRIX (GlaxoSmithKline biologicals S.A.)
	20 µg/1 ml	10 µg/0,5 ml		
Immunogenicità:	≥96% in	≥96% in		90,9% in pazienti in
Tasso di sieroprotezione (anti-HBs ≥ 10 UI/ml) un mese dopo l'ultima dose	soggetti sani di età ≥16 anni con scheda a 3 dosi (0, 1, 6 mesi)	soggetti sani di età ≤15 anni con scheda a 3 dosi (0, 1, 6 mesi)	≥96% in neonati, bambini, adolescenti e adulti sani	pre-dialisi o emodialisi di età ≥15 anni con scheda a 4 dosi (0, 1, 2 e 6 mesi)
Sicurezza: reazioni avverse	Molto comuni: irritabilità, cefalea dolore e rossore al sito di iniezione, affaticamento. (23 studi, 5329 soggetti inclusi)		Comuni: irritazione transitoria, eritema, indisposizione	Molto comuni: cefalea, affaticamento, dolore

Tutti i vaccini esavalenti disponibili in Italia hanno la stessa concentrazione antigenica, pari a 10µg di HBsAg/0,5 ml per dose, sono ottenuti mediante tecnologia a DNA ricombinate in cellule di lievito di *Hansenula polymorpha* (Hexacima e Hexyon) o di *Saccharomyces cerevisiae* (Vaxelis e Infanrix hexa) e sono raccomandati per il ciclo di immunizzazione primaria nella popolazione pediatrica a partire da 6 settimane di vita, possono essere somministrati fino a 15 mesi (Vaxelis), 24 mesi (Hexacima e Hexyon) o fino a 36 mesi di età (Infanrix hexa) [82-85].

Gli studi clinici che hanno valutato l'efficacia immunogenica dei quattro vaccini esavalenti disponibili in Italia hanno evidenziato un'alta percentuale di sieroconversione ($\geq 95\%$) un mese dopo l'ultima dose nei bambini che avevano ricevuto 3 dosi dello specifico vaccino con diverse schedule di immunizzazione primaria; fra i vaccini autorizzati, Infanrix hexa risulta avere il profilo di immunogenicità migliore con un tasso di sieroprotezione $\geq 98\%$ [85]. I profili di sicurezza dei quattro vaccini esavalenti sono comparabili, le reazioni avverse maggiormente riportate comprendono sintomi lievi e transitori come dolore al sito di iniezione, irritabilità, pianto ed eritema al sito di iniezione (Tabella 3) [82-85].

Tabella 3: Riepilogo dell'efficacia e della sicurezza dei vaccini esavalenti Hexacima, Hexyon, Vaxelis e Infanrix hexa nella popolazione pediatrica. IP: Immunizzazione Primaria [82-85].

	HEXACIMA (Sanofi Pasteur S. A.)	HEXYON (Sanofi Pasteur Europe)	VAXELIS (MCM Vaccine B.V.)	INFANRIX HEXA (GlaxoSmithKline biologicals S.A.)
Popolazione in studio	6 settimane – 24 mesi di età	6 settimane – 24 mesi di età	6 settimane – 15 mesi di età	6 settimane – 36 mesi di età
Immunogenicità: Tasso di sieroprotezione (anti-HBs ≥ 10 mUI/ml) un mese dopo l'ultima dose	95,7% IP: scheda a 3 dosi (6, 10, 14 settimane)	95,7% IP: scheda a 3 dosi (6, 10, 14 settimane)	97,8% IP: scheda a 3 dosi (2, 3, 4 mesi)	98,5% IP: scheda a 3 dosi (6, 10, 14 settimane)
	96,8% IP: scheda a 3 dosi (2, 3, 4 mesi)	96,8% IP: scheda a 3 dosi (2, 3, 4 mesi)	97,8% IP: scheda a 3 dosi (2, 4, 6 mesi)	98,9% IP: scheda a 3 dosi (2, 4, 6 mesi)
	98,8% IP: scheda a 3 dosi (2, 4, 6 mesi)	98,8% IP: scheda a 3 dosi (2, 4, 6 mesi)	98,8% IP: scheda a 3 dosi (2, 4, 6 mesi)	98% IP: scheda a 3 dosi (3, 4, 5 mesi)
Sicurezza: reazioni avverse	Molto comuni: inappetenza, pianto, sonnolenza, vomito, dolore e gonfiore al sito di iniezione, irritabilità, febbre $\geq 38^\circ\text{C}$	Molto comuni: inappetenza, pianto, sonnolenza, vomito, dolore e gonfiore al sito di iniezione, irritabilità, febbre $\geq 38^\circ\text{C}$	Molto comuni: inappetenza, pianto, sonnolenza, vomito, dolore e gonfiore al sito di iniezione, irritabilità, febbre $\geq 38^\circ\text{C}$	Molto comuni: perdita di appetito, pianto inconsolabile, irritabilità, irrequietezza, febbre $\geq 38^\circ\text{C}$, gonfiore al sito di iniezione, stanchezza, dolore, rossore

1.5.5 Epidemiologia dell'epatite B in Europa

L'epatite B è una patologia diffusa in tutto il mondo e la sua endemicità è definita in relazione ai profili di sieroprevalenza dell'antigene di superficie nella popolazione generale di una determinata area geografica. Valori di prevalenza $\geq 8\%$ definiscono aree ad alta endemia, una prevalenza del 5-7% è tipica di zone a medio-alta endemia, del 2-4% di aree a medio bassa endemia e $< 2\%$ a bassa endemia [86].

L'ultimo report pubblicato nel 2018 dall'ECDC fornisce un quadro generale e aggiornato al 2016 dell'epidemiologia dell'epatite B in Europa. Nel 2016, 30 Stati membri dell'EU/EEA hanno riportato in totale 29 307 casi di infezione da HBV, corrispondente ad un tasso grezzo di 5,5 casi per 100 000 abitanti; sulla base dei criteri di definizione dello stato di infezione da HBV [87, 88] la maggior parte dei casi (60,3%) è stato a carico di infezioni croniche, l'8,6% per infezione acuta, il 30% è stato definito "sconosciuto" (infezione né cronica, né acuta) e non è stato possibile classificare l'1,1% dei casi a causa di un formato incompatibile dei dati raccolti [89].

Il tasso stimato nel 2016 per i casi di infezione acuta a livello europeo è di 0,6 casi per 100 000, spaziando da un minimo di 0 casi per il Lussemburgo e Cipro, fino al valore massimo di 3,7 casi calcolato per la Lituania (Figura 12). Prendendo in considerazione le informazioni regolarmente registrate da 16 paesi dell'EU/EEA (Danimarca, Estonia, Finlandia, Francia, Germania, Grecia, Ungheria, Irlanda, Lituania, Paesi Bassi, Norvegia, Romania, Slovacchia, Slovenia, Svezia e Regno Unito – esclusa la Scozia) dal 2007 al 2016, si nota un costante decremento del tasso di epatite B acuta da 1,2 casi per 100 000 abitanti nel 2007 a 0,6 casi per 100 000 abitanti nel 2016 (Figura 13).

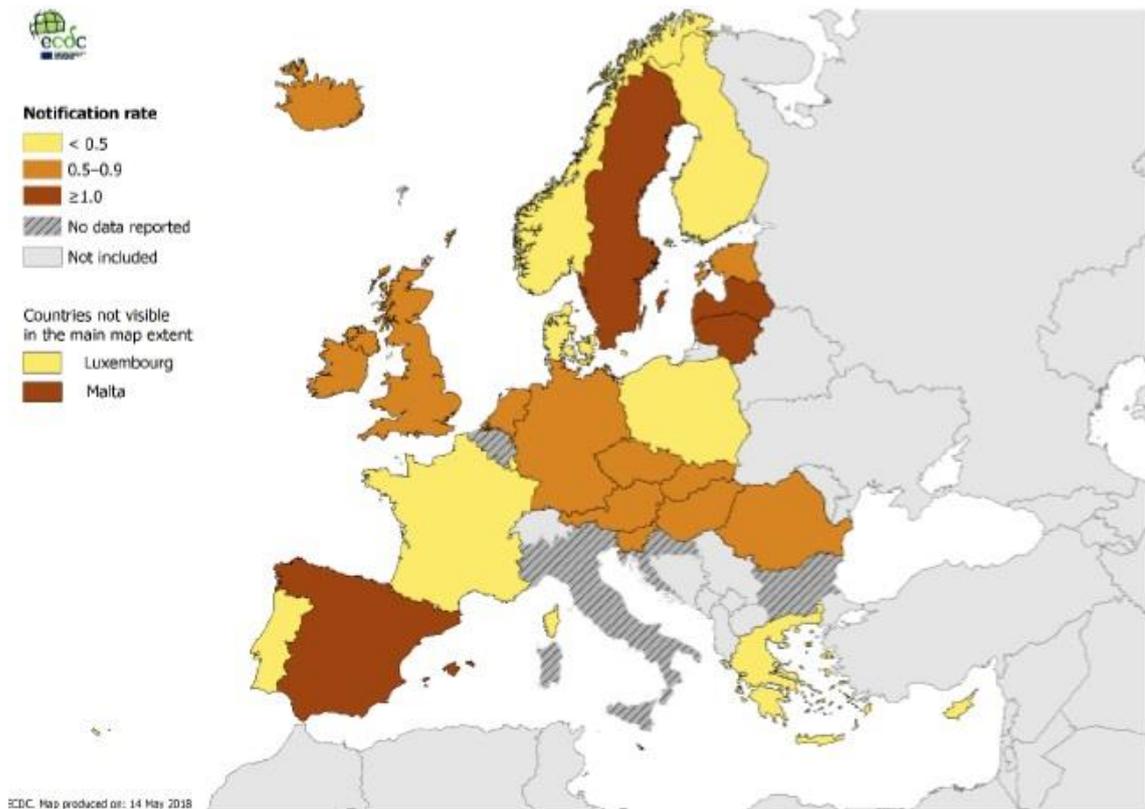


Figura 12: Tasso di notifica di epatite B acuta per 100 000 abitanti nei paesi membri dell'EU/EEA nel 2016 [89]. Fonte: ECDC https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/documents/AER_for_2016-hepatitis-B-rev1.PDF

A livello europeo il tasso di notifica di epatite B cronica è stato di 8,7 di casi per 100 000 abitanti nel 2016, le percentuali più basse sono state calcolate per Romania e Cipro (<0,1/100 000) e quella più alta per la Svezia (18,7/100 000); tuttavia il 57,7% di tutti i casi di infezione cronica del 2016 sono a carico del Regno Unito (esclusa la Scozia). Considerando tutte le informazioni raccolte regolarmente dal 2007 al 2016 provenienti da 11 Paesi dell'EU/EEA (Danimarca, Estonia, Finlandia, Irlanda, Lituania, Paesi Bassi, Norvegia, Slovacchia, Slovenia, Svezia e Regno Unito – esclusa la Scozia) si nota un *trend* in aumento del tasso dei casi di epatite B cronica, da 7,2 casi per 100 000 abitanti nel 2007 a 12,8 casi per 100 000 abitanti nel 2016 (Figura 13) [89].

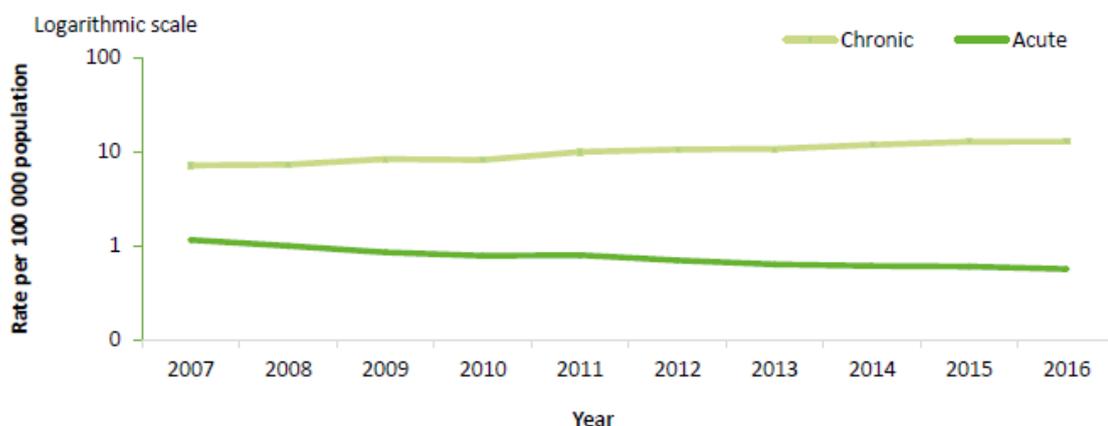


Figura 13: Tassi di epatite B acuta e cronica per 100 000 abitanti dal 2007 al 2016 nei paesi dell'EU/EEA che hanno regolarmente raccolto le informazioni [89]. Fonte: ECDC: https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/documents/AER_for_2016-hepatitis-B-rev1.PDF

Nel 2016, la popolazione della fascia d'età fra 25-34 anni è risultata essere maggiormente colpita sia da epatite B acuta (23,6 % dei casi), che da epatite B cronica (32,3% dei casi); in generale il rapporto *male-to-female* per epatite B acuta e cronica è a svantaggio della popolazione maschile (rispettivamente 2:1 e 1,7:1), che infatti annovera il maggior numero di casi in tutte le fasce d'età per entrambe le condizioni patologiche, ad eccezione della popolazione femminile pediatrica di età <5 anni che ha un tasso di casi riportati per epatite B acuta leggermente superiore a quello della rispettiva popolazione maschile [89].

La principale modalità di trasmissione dell'HBV per i casi di epatite B acuta è stata mediante rapporti sessuali fra partner eterosessuali (30,2% dei casi), seguita da trasmissione nosocomiale (16,6%) e rapporti sessuali nella comunità MSM (12,4%). Nel caso dell'epatite B cronica, la trasmissione nosocomiale e da madre a figlio sono state le più frequenti (rispettivamente 32,6 e 31,6%).

In Europa si osserva in generale un *trend* in diminuzione dei casi di epatite B acuta, grazie soprattutto all'importante contributo dato dall'introduzione della vaccinazione anti-epatite B nei programmi di vaccinazione nazionale; tuttavia per raggiungere l'obiettivo di controllo ed eliminazione dell'epatite B dall'Europa è necessario intensificare i programmi di prevenzione e di controllo dell'infezione e migliorare anche la qualità della raccolta dei dati di sorveglianza della malattia infettiva, ancora molto disomogenei fra i vari paesi membri dell'EU/EEA [89].

1.5.6 Epidemiologia dell'epatite B in Italia e in Toscana

Negli ultimi tre decenni, il quadro epidemiologico italiano dell'epatite B è profondamente mutato, con un *trend* in diminuzione sia dei nuovi casi di infezione da HBV che della prevalenza della malattia. Più fattori hanno concorso a questo cambiamento, sia di carattere generale (migliori condizioni socio-economiche), che specifici, come l'introduzione della vaccinoprofilassi di massa anti-epatite B a partire dagli anni '90 nei nuovi nati, nei dodicenni e nei gruppi a rischio; la diffusione di materiale medico monouso nelle pratiche cliniche o di laboratorio e l'introduzione di test di *screening* del sangue donato più sensibili.

Di particolare impatto nel cambiamento dell'epidemiologia di questa malattia infettiva, è stata l'introduzione della vaccinazione universale contro l'epatite B nel 1991: seguendo infatti l'andamento temporale dell'incidenza della malattia si può notare come il decremento più marcato corrisponda agli anni successivi alla sua introduzione, interessando maggiormente i soggetti d'età compresa fra i 15 e i 24 anni (verosimilmente grazie alla vaccinazione nei dodicenni) (Figura 14) [90, 91].

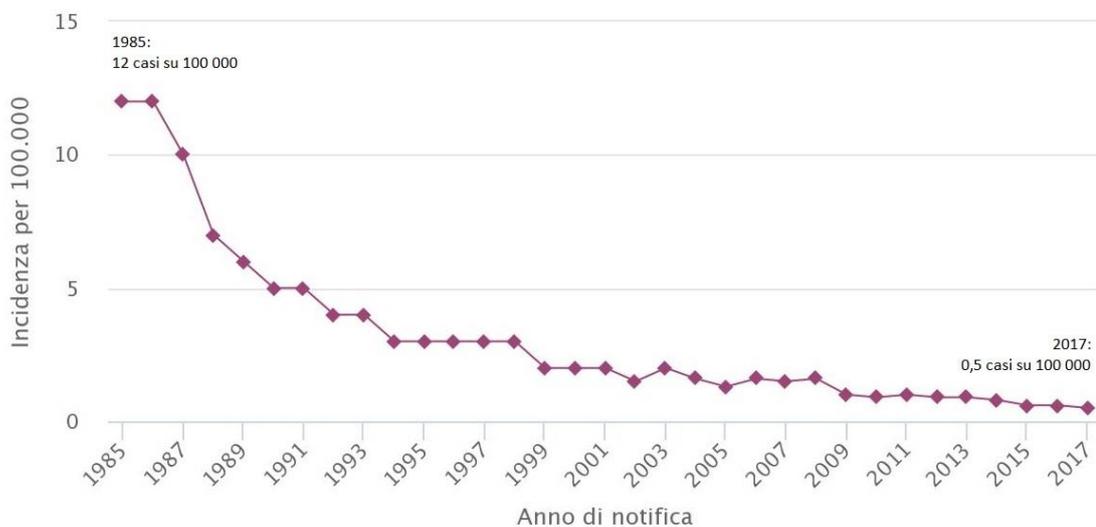


Figura 14: Serie storiche SEIEVA. Andamento dell'incidenza dell'epatite B in Italia dal 1985 al 2017. (Dati preliminari del 2017) [91].

Ad oggi si può considerare immunizzata e quindi protetta sia dall'infezione acuta che cronica da HBV la popolazione di età ≤ 39 anni, a cui nel corso di questi ultimi 27 anni è stata offerta in maniera attiva la vaccinoprofilassi. Fra la popolazione italiana rimanente non *target* della vaccinazione, si stima che alcuni milioni di individui siano comunque immunizzati verso l'epatite B per pregressa infezione naturale e poi spontaneamente

risolta senza conseguenze come la cronicizzazione; ma rimane ancora consistente la quota di popolazione suscettibile; di portatori di infezione cronica (circa 600 000 individui) che hanno contratto l'infezione in età pediatrica e di questi circa un terzo è affetto da complicanze epatiche HBV dipendenti; e di soggetti in trattamento terapeutico anti-HBV (circa 20 000 persone) [92].

Attualmente la popolazione maggiormente colpita da epatite B è quella maschile (75,3%) di età compresa fra i 35 e 54 anni (Figura 15). L'esposizione percutanea durante trattamenti estetici, terapie odontoiatriche e rapporti sessuali non protetti rappresentano le principali cause di trasmissione del virus; inoltre, negli ultimi 5 anni, il 19% delle infezioni acute ha riguardato soggetti di nazionalità non italiana provenienti da aree ad alta endemia per HBV, soprattutto Est Europa (9% del totale dei casi notificati al sistema SEIEVA) e dall'Africa (4,9%) [90].

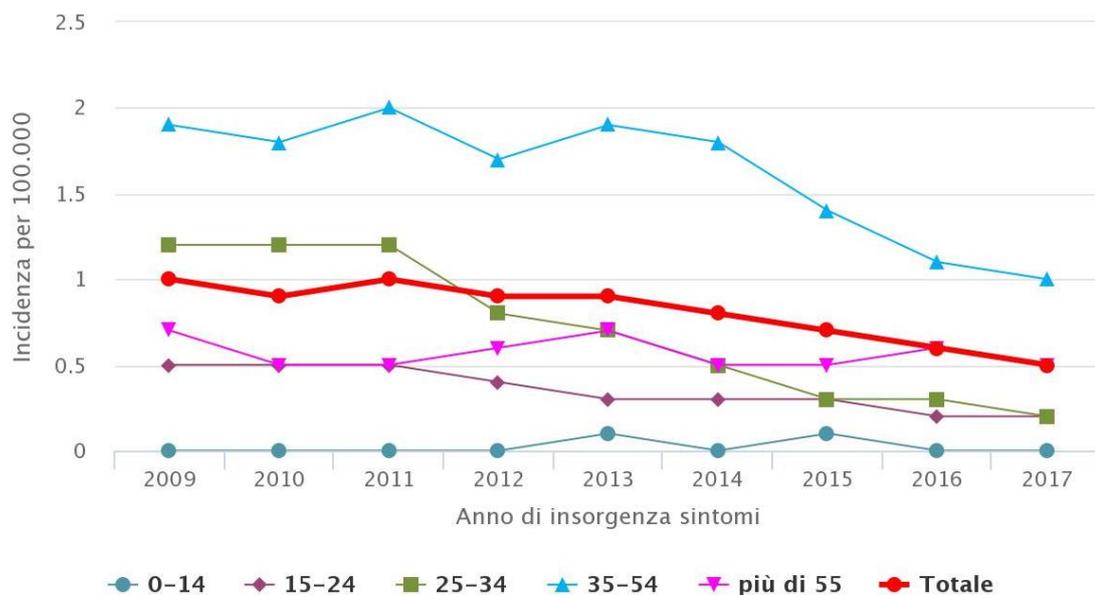


Figura 15: Andamento temporale dell'incidenza dell'epatite B in Italia per classe d'età, dal 2009 al 2017. Dati SEIEVA [91].

L'ultimo bollettino pubblicato da SEIEVA nel 2018 ha riportato che nel 2017 in Italia sono stati segnalati 227 nuovi casi di epatite B acuta, nessuno ha riguardato la fascia pediatrica, per un'incidenza media nazionale di 0,5 casi per 100 000 abitanti (valore dimezzato rispetto al 2009). La popolazione adulta (35-54 anni) è la più colpita (unica fascia d'età per cui l'incidenza rimane superiore ad 1 caso su 100 000 abitanti) e circa i 3/4 dei casi riguarda gli uomini. La trasmissione del virus per via sessuale e per via

parenterale inapparente in occasione di trattamenti come *manicure*, *piercing* o tatuaggi sono state le modalità più frequenti (27%), nell'11% l'infezione è stata associata all'ambito nosocomiale (ospedalizzazione, interventi chirurgici, emodialisi o trasfusioni di sangue), mentre la trasmissione legata alla pratica di condivisione di siringhe per somministrazione di droghe per via endovenosa riguarda solo il 6% dei casi. Nonostante la forte raccomandazione della vaccinazione anti-epatite B in soggetti ad aumentato rischio di infezione per esposizione professionale o per condizioni patologiche, nel 2017 sono stati comunque registrati 2 casi in operatori sanitari e un caso in un paziente in emodialisi [93].

In Toscana nel 2017 sono stati notificati 53 casi di epatite B acuta sintomatica (tasso di notifica: 1,4 casi per 100 000 abitanti) con nessun caso notificato nella popolazione di età compresa fra 0 e 24 anni. La malattia ha colpito prevalentemente i soggetti di età compresa fra 45 e 64 anni, sia in termini di numero di casi (33 in totale) che di tassi grezzi di incidenza (5,2 per 100 000 abitanti). La seconda classe maggiormente colpita risulta essere quella di età compresa fra 25 e 44 anni con 18 casi totali notificati ed un tasso grezzo di incidenza pari a 3,3 per 100 000 abitanti. In entrambe le classi di età è stato registrato un numero di casi sensibilmente maggiore negli uomini (Tabella 4). Tuttavia, tenendo in considerazione che i soggetti di età superiore a 38 anni non risultano coperti da vaccinazione, l'analisi della distribuzione dei casi di epatite B per età ha evidenziato che 9 casi sono stati notificati in soggetti di età inferiore a 38 anni e 24 in soggetti di età ≥ 38 anni [94].

Tabella 4: Numero di casi e tassi grezzi di incidenza ogni 100 000 abitanti, per classe di età e genere in Toscana, anno 2017 [94]. Fonte: ARS su SIMI.

Classe d'età	Casi			Tassi grezzi*100 mila abitanti		
	Maschi	Femmine	Totale	Maschi	Femmine	Totale
0	0	0	0	0	0	0
1-4	0	0	0	0	0	0
5-14	0	0	0	0	0	0
15-24	0	0	0	0	0	0
25-44	15	3	18	3,3	0,7	2
45-64	28	5	33	5,2	0,9	3
65+	2	0	2	0,5	0	0,2

L'analisi del *trend* dei casi di epatite B notificati in Toscana dal 1994 al 2017 mostra che fino al 2007 sono stati segnalati più di 100 casi all'anno e che dal 2008 l'andamento tende ad una generale diminuzione con i minimi storici negli anni 2015-2016 (40 casi notificati) (Figura 16) [94].



Figura 16: Numero di cassi notificati in Toscana per anno dal 1994 al 2017 [94]. Fonte: ARS su SIMI.

In accordo con i dati nazionali, i tassi grezzi medi annuali calcolati sui casi notificati negli anni 2013-2017 confermano che le incidenze maggiori si registrano nelle classi di età compresa fra 25-44 anni e 45-64 anni, con una prevalenza più alta nei soggetti di sesso maschile (Figura 17) [94].

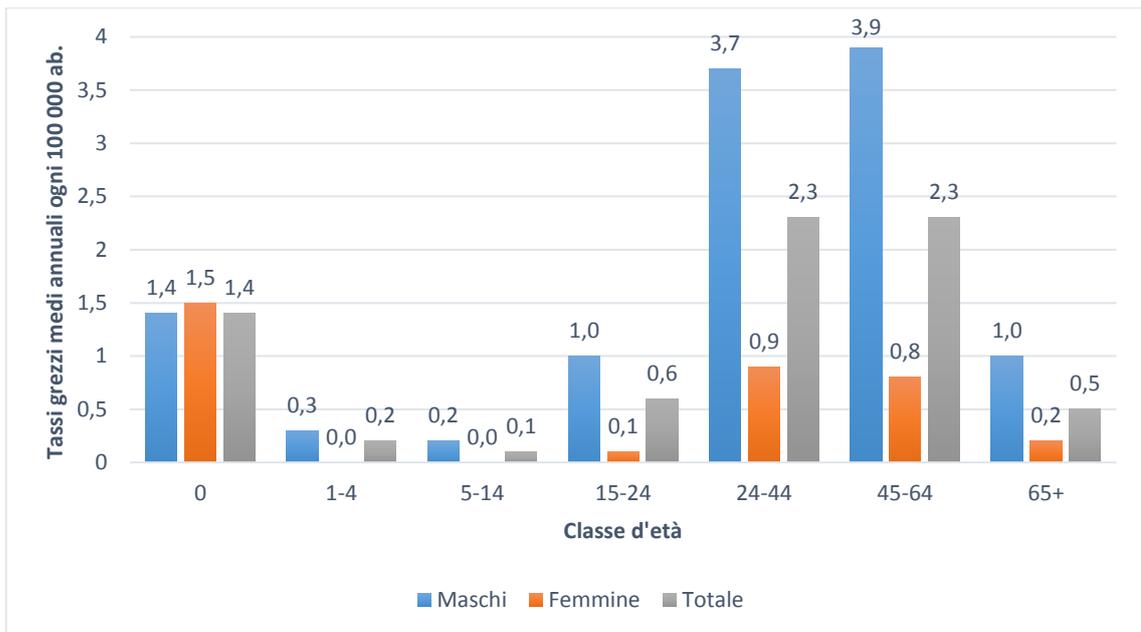


Figura 17: Tassi grezzi medi annuali ogni 100 000 abitanti per classe di età e genere. Toscana, anni 2013-2017 [94]. Fonte: ARS su SIMI.

1.5.7 Coperture vaccinali anti-epatite B in Italia e in Toscana

Il nuovo Piano Prevenzione Vaccinale 2017-2019 si è posto l'obiettivo di raggiungere e mantenere valori di copertura vaccinale per l'epatite B $\geq 95\%$ nei nuovi nati, valore soglia raccomandato dall'OMS per raggiungere l'immunità di gregge nella popolazione pediatrica [31]. Tuttavia a partire dal 2013 nel nostro paese si è assistito ad un progressivo calo di adesione alle vaccinazioni sia obbligatorie che raccomandate che ha quindi determinato anche un abbassamento delle coperture vaccinali medie nazionali al di sotto della soglia del 95% (Figura 17) [95-112]: ad esempio, nel 2016 la CV media nazionale a 24 mesi per la vaccinazione anti-epatite B è stata del 92,98%, minimo storico registrato a partire dal 2000. Anche in Toscana, nel 2016 la CV è arrivata al valore minimo del 94,09% rappresentando la più bassa copertura vaccinale calcolata dal 2003 [111]. Questa graduale riduzione delle coperture vaccinali ha pertanto rappresentato il rationale per l'applicazione dell'obbligatorietà di 10 vaccinazioni per la popolazione italiana di età fra 0-16 anni per la frequenza scolastica, grazie alla quale si è potuto assistere già nel 2017 ad un recupero generale dei valori delle CV nazionali, incluse quelle relative alla vaccinazione anti-epatite B che nel 2017 è salita al 94,34% nei bambini di 24 mesi, superando, in Toscana il valore soglia (95,35%) [112]. Tuttavia, per la vaccinazione anti-epatite B rimangono ancora al di sotto della soglia del 95% le CV nazionali a 36 e 48 mesi e a 8 anni (rispettivamente: 94,32%; 94,7%; 94,34%; 77,33%);

analoga osservazione può esser fatta per le CV della Toscana a 36 e 48 mesi e a 8 anni (rispettivamente: 93,12%; 93,61%; 92,65%) [113-115].

L'andamento delle CV a 24 mesi relative ad ASL Toscana Centro dal 2003 al 2017 mostra delle oscillazioni intorno al valore soglia raccomandato: dal 2006 al 2010 le coperture sono sopra il 95%, tendono poi ad un calo dal 2011 al 2016 con valori compresi fra 94,7-94,9% (ad eccezione del 2013 in cui sono state registrate CV pari al 96%) con infine un recupero nel 2017 con CV del 95,65% (Figura 18) [116].

Il dato relativo all'ex ASL 10 che comprende, oltre ai 5 quartieri del comune di Firenze, anche l'Area Fiorentina Nord-Ovest (Calenzano, Campi Bisenzio, Fiesole, Lastra a Signa, Scandicci, Sesto Fiorentino, Signa e Vaglia); l'Area Fiorentina Sud-Est (Bagno a Ripoli, Barberino Val d'Elsa, Figline Valdarno, Greve in Chianti, Impruneta, Incisa in Val d'Arno, Londa, Pelago, Pontassieve, Reggello, Rignano sull'Arno, Rufina, San Casciano in Val di Pesa, San Godenzo, Tavarnelle Val di Pesa) e il Mugello (Barberino di Mugello, Borgo San Lorenzo, Dicomano, Firenzuola, Marradi, Palazzuolo sul Senio, San Piero a Sieve, Scarperia, Vicchio) evidenzia come le coperture vaccinali a 24 mesi siano sempre inferiori al 95% dal 2003 al 2016, con un aumento di due punti percentuali dal 2016 (93,28%) al 2017 (95,33%) (Figura 18) [116].

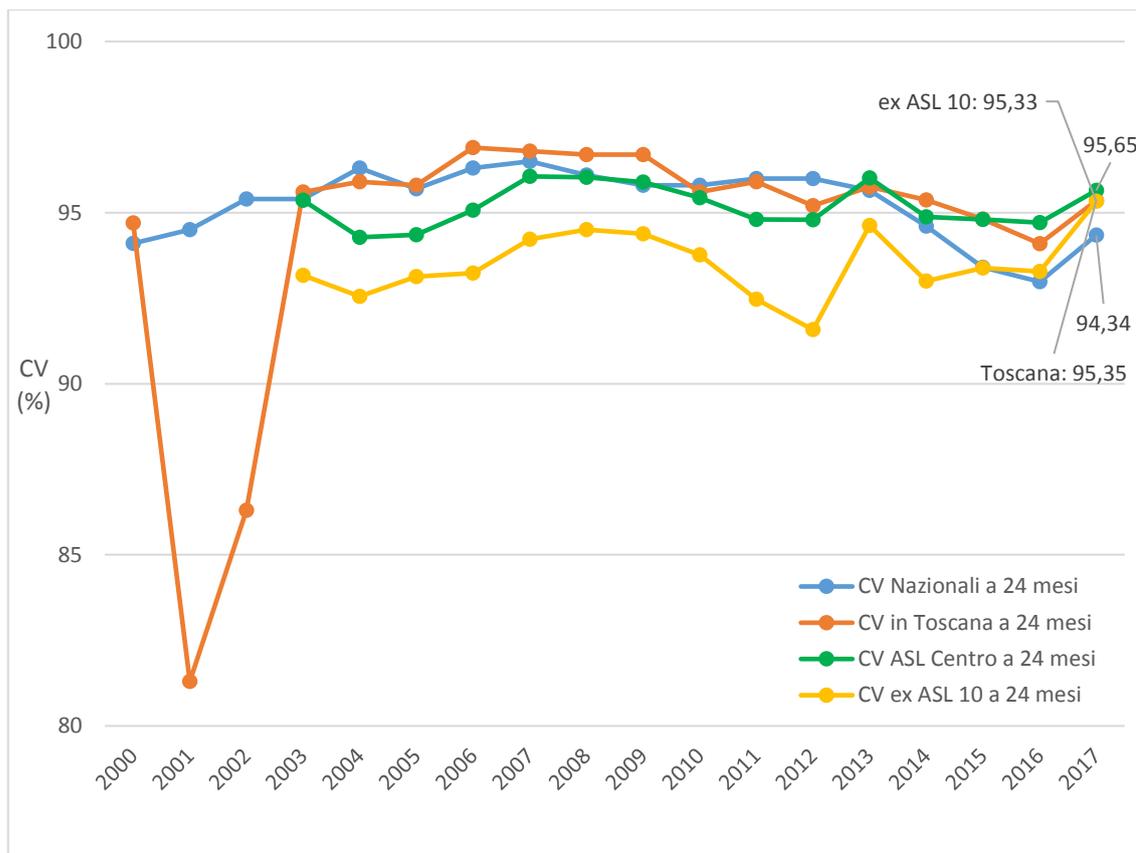


Figura 18: Andamento delle coperture vaccinali nazionali, della Toscana, della ASL Toscana Centro e della ex ASL 10 a 24 mesi per la vaccinazione anti-epatite B (ciclo di base completo a 3 dosi), dal 2000 al 2017 (dal 2003 per ASL Toscana Centro ed ex ASL 10).

Fonte CV Nazionali e CV Toscana: Ministero del Lavoro, della Salute e delle Politiche Giovanili (anni: 2000-2007); Ministero della Salute (anni: 2008-2017).

Fonte CV ASL Toscana Centro ed ex ASL 10: Elaborazioni Regione Toscana, Settore prevenzione e sicurezza in ambienti di vita e di lavoro, alimenti e veterinaria.

1.6 Scopo della ricerca

Gli studi sieroepidemiologici sono uno strumento utile per monitorare la distribuzione dei soggetti suscettibili nella popolazione. La ricerca di anticorpi circolanti contro alcune malattie infettive in campioni di siero prelevati da soggetti sani nel corso di esami routinari di *check-up* rappresenta un metodo semplice ed economico di raccolta di dati su ampie fasce di popolazione. In particolare il monitoraggio della suscettibilità e dei livelli di immunità in una popolazione immunizzata contro malattie infettive prevenibili da vaccino, consente di individuare gruppi a rischio (come particolari fasce di età) nei confronti di alcune patologie, come le epatiti virali, e di fornire informazioni utili sulla durata della protezione conferita dalla vaccinazione o dall'infezione naturale. Per avere un quadro esaustivo dell'attuale situazione epidemiologica circa specifiche malattie infettive è opportuno appaiare i dati delle indagini di sieroprevalenza, con quelli disponibili sulle coperture vaccinali e sulle notifiche di malattia. La comparazione dell'intero corpo dati consente di ottenere importanti informazioni, utili ai vari livelli decisionali di Sanità Pubblica, da una parte per valutare il raggiungimento degli obiettivi dei Piani Nazionali di Prevenzione Vaccinale e dall'altra misurare l'impatto dei programmi di immunizzazione. Il presente studio si colloca all'interno del Progetto sierologia promosso dal Dipartimento di Scienze della Salute per indagare l'immunità e la suscettibilità verso sei malattie infettive vaccino-prevenibili (morbillo, rosolia, varicella, epatite A, epatite B e tetano) nella popolazione residente nella provincia di Firenze di età compresa fra 1 e 99 anni, mediante la somministrazione di un questionario e la raccolta di un campione di sangue nei soggetti arruolati.

Obiettivo generale della presente ricerca è la valutazione dei livelli di suscettibilità e di immunità nei confronti dell'epatite B, in un campione di sieri raccolto presso il centro prelievi dell'Azienda Ospedaliera Universitaria Meyer di Firenze e rappresentativo della popolazione pediatrica e adolescente (1-18 anni) residente nella provincia di Firenze in relazione allo stato vaccinale o di pregressa infezione.

Obiettivo secondario dello studio è la comparazione dei risultati ottenuti con quelli di precedenti studi sieroepidemiologici condotti nella stessa area geografica e la descrizione dell'andamento temporale dei livelli di immunità nella popolazione

pediatrica e adolescente residente in Toscana a partire dagli studi condotti nel 2000 e nel 2009.

Obiettivo ulteriore è quello di presentare i dati raccolti durante la fase di arruolamento sul ricordo anamnestico di vaccinazione e pregressa infezione per tutte le malattie infettive e relative vaccinazioni indagate nel Progetto sierologia.

2. MATERIALI E METODI

2.1 Disegno dello studio

Nell'ambito del Progetto sierologia promosso dal Dipartimento di Scienze della Salute è stato condotto uno studio di sieroprevalenza su campioni biologici umani (siero) avvalendosi della collaborazione con l'Azienda USL Toscana Centro (AUSLTC) e l'Azienda Ospedaliero Universitaria Meyer (AOUMeyer). Le fasi dello studio sono schematizzate in Figura 19.

2.2 Popolazione in studio

La popolazione in studio del Progetto sierologia è rappresentata dai soggetti residenti nella provincia di Firenze afferenti ai centri prelievo dell'AOUMeyer o ai presidi territoriali della AUSLTC per effettuare un normale prelievo ematico a scopo diagnostico o per accertamenti di routine. I soggetti arruolati sono di età compresa fra 1 e 99 anni. In Tabella 5 è schematizzata la composizione della popolazione residente nella provincia di Firenze suddivisa per fasce d'età e sesso (dati aggiornati al 1° Gennaio 2015).

Poiché la popolazione residente nella provincia di Firenze è rappresentata per più della metà da persone con età ≥ 40 anni (61,71%), per stratificare la popolazione campione è stato applicato un tasso di proporzione doppio (0,001) per la popolazione entro i 20 anni di età (1-19 anni) rispetto a quello applicato per le rimanenti fasce d'età (≥ 20 anni) per aumentare la numerosità dei soggetti nelle fasce di età pediatrica e adolescenziale. La popolazione oggetto dello studio è stata stratificata in gruppi di età, risultando quindi proporzionale alla rispettiva popolazione residente. I soggetti di età compresa fra 1 e 19 anni sono stati suddivisi per classi annuali di età, la popolazione adulta, invece, è stata suddivisa in classi decennali.

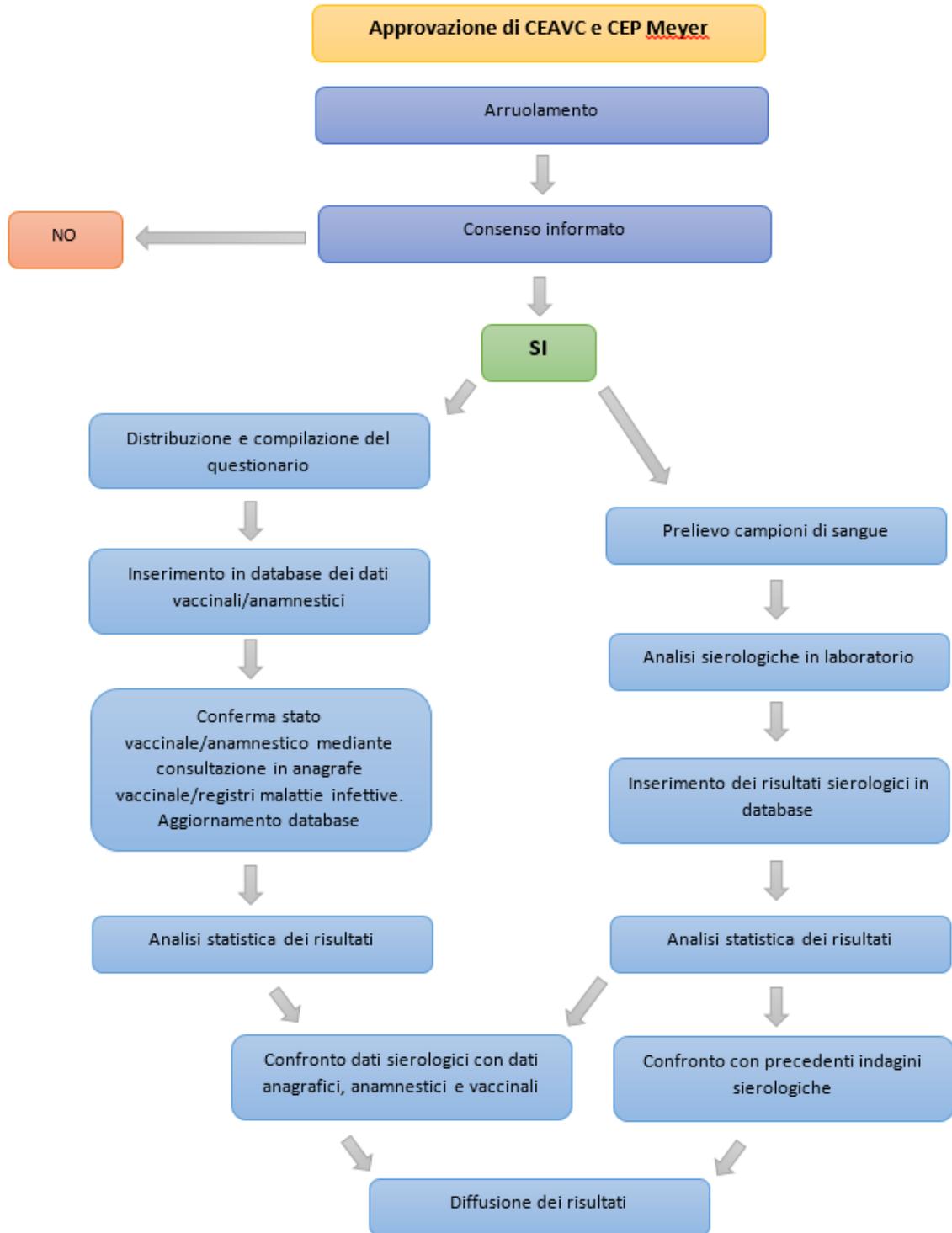


Figura 19: Diagramma di flusso delle fasi dello studio.

Per il calcolo della numerosità dei soggetti da arruolare per ciascuna classe d'età sono state tenute in considerazione le seguenti relazioni:

n° di soggetti da arruolare per anno di età (1 – 19 anni)

= tasso proporzione della popolazione

· N soggetti relativi alla classe d'età e al sesso = 0,001 · N_{età, sesso}

n° di soggetti da arruolare per classi decennali (20 – 99 anni)

= tasso proporzione della popolazione

· N soggetti relativi alla classe d'età e al sesso = 0,0005 · N_{età, sesso}

Tabella 5: Composizione della popolazione (1-99 anni) residente al 1° Gennaio 2015 nella provincia di Firenze. Suddivisione per anno di età (1-19 anni) e sesso o classi di età (≥20 anni) e sesso. Fonte: GeoDemo Istat. <http://demo.istat.it/pop2015/index.html>

Fascia d'età	Totale Maschi (M)	Totale Femmine (F)	M + F	% M	% F	% M + F
1 anno	4 230	3 954	8 184	0,42	0,39	0,82
2 anni	4 441	4 207	8 648	0,44	0,42	0,86
3 anni	4 499	4 108	8 607	0,45	0,41	0,86
4 anni	4 644	4 268	8 912	0,46	0,43	0,89
5 anni	4 578	4 416	8 994	0,46	0,44	0,90
6 anni	4 910	4 348	9 258	0,49	0,43	0,92
7 anni	4 767	4 344	9 111	0,47	0,43	0,91
8 anni	4 612	4 376	8 988	0,46	0,44	0,90
9 anni	4 632	4 515	9 147	0,46	0,45	0,91
10 anni	4 860	4 353	9 213	0,48	0,43	0,92
11 anni	4 676	4 303	8 979	0,47	0,43	0,89
12 anni	4 630	4 441	9 071	0,46	0,44	0,90
13 anni	4 565	4 326	8 891	0,45	0,43	0,89
14 anni	4 685	4 310	8 995	0,47	0,43	0,90
15 anni	4 427	4 061	8 488	0,44	0,40	0,85
16 anni	4 505	4 173	8 678	0,45	0,42	0,86
17 anni	4 423	4 130	8 553	0,44	0,41	0,85
18 anni	4 294	4 014	8 308	0,43	0,40	0,83
19 anni	4 348	4 087	8 435	0,43	0,41	0,84
20-29 anni	46 345	45 983	92 328	4,62	4,58	9,20
30-39 anni	61 324	63 259	124 583	6,11	6,30	12,41
40-49 anni	81 501	84 817	166 318	8,12	8,45	16,57
50-59 anni	68 805	73 437	142 242	6,85	7,32	14,17
60-69 anni	58 228	65 829	124 057	5,80	6,56	12,36
70-79 anni	47 320	58 509	105 829	4,71	5,83	10,54
80-89 anni	25 262	40 641	65 903	2,52	4,05	6,57
90-99 anni	4 047	11 017	15 064	0,40	1,10	1,50
Totale	479 558	524 226	1 003 784	47,78	52,22	100,00

La Tabella 6 riporta il totale dei soggetti da arruolare sulla base dei differenti tassi di proporzione applicati alle specifiche categorie di età.

Nel presente lavoro vengono riportati i risultati relativi alle analisi sierologiche e all'analisi dei questionari della popolazione di età compresa fra 1-18 anni arruolata presso il centro prelievi dell'Azienda Ospedaliero Universitaria Meyer.

Tabella 6: Totale dei soggetti da arruolare suddivisi per fasce d'età e sesso.

Fascia d'età	Totale Maschi	Totale Femmine	Maschi+Femmine
1 anno	4	4	8
2 anni	4	4	8
3 anni	4	4	8
4 anni	5	4	9
5 anni	5	4	9
6 anni	5	4	9
7 anni	5	4	9
8 anni	5	4	9
9 anni	5	5	10
10 anni	5	4	9
11 anni	5	4	9
12 anni	5	4	9
13 anni	5	4	9
14 anni	5	4	9
15 anni	4	4	8
16 anni	5	4	9
17 anni	4	4	8
18 anni	4	4	8
19 anni	4	4	8
20-29 anni	23	23	46
30-39 anni	31	32	63
40-49 anni	41	42	83
50-59 anni	34	37	71
60-69 anni	29	33	62
70-79 anni	24	29	53
80-89 anni	13	20	33
90-99 anni	2	6	8
Totale	285	299	584

2.3 Criteri di inclusione

I criteri di inclusione dei soggetti da arruolare sono stati definiti in base alla letteratura disponibile [117-125].

Di seguito sono riportati i criteri di inclusione individuati:

- Essere residenti nella provincia di Firenze e avere un'età compresa fra 1 e 99 anni
- Non essere affetti da immunodeficienze acquisite o congenite
- Non essere stati sottoposti a terapia immunosoppressiva

- Non aver avuto una malattia infettiva acuta (fra quelle oggetto dello studio) nelle due settimane precedenti
- Non aver subito trasfusioni di sangue nei sei mesi precedenti al prelievo
- Fornire il consenso alla partecipazione allo studio.

2.4 Arruolamento

Il protocollo dello studio è stato approvato dal Comitato Etico Area Vasta Centro (CEAVC) in data 28/03/2018 e in seguito ad emendamento in data 13/06/2017 e dal Comitato Etico Regionale per la Sperimentazione Clinica della Regione Toscana (sezione Comitato Etico Pediatrico – CEP) in data 05/07/2017. Entrambi hanno verificato la conformità dello studio alle Norme della Buona Pratica Clinica dell'Unione Europea e ai principi etici espressi nella Dichiarazione di Helsinki. È stato infine stipulato in data 06/10/2018 un accordo di collaborazione scientifica, firmato dalle tre parti coinvolte nel progetto (DSS, AUSLTC e AOUMeyer) per l'inizio dell'arruolamento.

L'arruolamento si è svolto presso il centro prelievi di AOUMeyer per la popolazione di età compresa fra 1-18 anni, la popolazione adulta (≥ 18 anni) è stata in parte arruolata presso il centro prelievi del presidio territoriale Morgagni 33. Come stipulato nell'accordo di collaborazione scientifica, l'arruolamento degli adulti potrà avvenire anche presso altri cinque centri prelievo presenti sul territorio della provincia di Firenze: Nuovo Ospedale San Giovanni di Dio, Ospedale Santa Maria Nuova e nei presidi di Piazzetta Dallapiccola, Via D'Annunzio 29 e Viale Gramsci 651.

Durante questa prima fase dello studio sono stati coinvolti medici in formazione specialistica presso la Scuola di Igiene e Medicina Preventiva dell'Università degli Studi di Firenze, per informare del progetto le persone presenti nelle sale di attesa dei centri prelievo e raccogliere il consenso per l'adesione allo studio. I medici hanno quindi seguito un protocollo di arruolamento per valutare la possibilità di inclusione del soggetto intervistato (Allegato A).

2.5 Raccolta del consenso informato

Una volta verificato che il soggetto rispettava i criteri di inclusione elencati nel protocollo di arruolamento, si è proceduto con la richiesta del consenso informato. Il personale medico dedicato ha consegnato il modulo di informativa e di consenso direttamente alla

persona, se maggiorenne (Allegato B), oppure ai/al genitori/tutore in caso di soggetto minorenni (Allegato C). Ogni soggetto arruolato o, in caso di soggetti minorenni, entrambi i genitori o il tutore, hanno fornito un consenso scritto per la raccolta dei dati personali e del campione di sangue. Inoltre ai soggetti minori è stato consegnato un modulo informativo e di assenso alla partecipazione allo studio (per bambini di età compresa fra 7 e 13 anni: Allegato D; per ragazzi di 14-18: anni Allegato E). Ai soggetti arruolati interessati è stata consegnata una lettera di informativa da presentare al proprio medico di base o al pediatra di libera scelta nella prima occasione utile per comunicare l'adesione allo studio (Allegato F).

2.6 Distribuzione e compilazione del questionario

Il questionario per la raccolta dati è l'elemento di novità del presente studio sieropidemiologico rispetto agli studi precedentemente condotti nella stessa area geografica ed ha lo scopo di raccogliere oltre dati anagrafici come età, sesso, residenza nazionalità e codice fiscale, anche informazioni relative allo stato vaccinale o di pregressa malattia infettiva riguardo alle sei malattie infettive vaccino-prevenibili oggetto dello studio approvato dal comitato etico: morbillo, rosolia, varicella, epatite A, epatite B e tetano. Il questionario presenta 29 domande suddivise in 8 sezioni (Allegato G).

SEZIONE 1: STATO DI IMMUNOCOMPETENZA. Come ulteriore conferma che i soggetti arruolati hanno soddisfatto i seguenti criteri di inclusione:

- Soggetti non affetti da immunodeficienze acquisite o congenite
- Soggetti non sottoposti a terapia immunosoppressiva

SEZIONI 2-7: STATO VACCINALE E ANAMNESI. Per morbillo, rosolia, varicella, epatite B ed epatite A sono poste le seguenti quattro domande:

1. Si è mai ammalato di ...?
2. Se sì, in quale anno si è ammalato di ...?
3. È stato vaccinato per ...?
4. Se sì, in quale anno è stato vaccinato per ...?

Nella sezione dedicata alla rosolia, si pongono 3 domande aggiuntive indirizzate ai soggetti di sesso femminile in età fertile (15-49 anni):

5. Ha mai effettuato il Rubeotest?
6. Conosce l'esito del Rubeotest?
7. Se sì, ricorda il risultato?

Per la sezione dedicata al tetano, vengono poste le seguenti 3 domande:

1. Ha effettuato il ciclo di base di 3 dosi in età pediatrica?
2. Ha effettuato i richiami vaccinali (in adolescenza o ogni 10 anni in età adulta)?
3. Quando ha effettuato l'ultima dose?

2.7 Prelievo e conservazione dei campioni di sangue

La raccolta dei campioni di sangue è stata condotta nel rispetto della vigente normativa sulla protezione dei dati personali. Il personale infermieristico dipendente dei centri prelievo di AOUMeyer e AUSLTC ha eseguito il prelievo ematico ed un collaboratore afferente al DSS si è occupato di seguire il paziente arruolato nella sala dedicata al prelievo per recuperare il relativo campione. Per la raccolta del campione sono state utilizzate provette per sierologia con tappo giallo, modello BD Vacutainer STT II Advance. I campioni etichettati e collocati in un apposito contenitore refrigerato sono stati poi trasportati presso il laboratorio di sierologia del DSS, dove sono stati centrifugati (T=4°C, 1600 rpm per 10') per recuperare l'aliquota di siero. I campioni sono stati conservati a T=-20°C fino all'esecuzione delle analisi sierologiche.

2.8 Raccolta dati dal questionario ed inserimento in database

Le informazioni raccolte nel questionario cartaceo sono state riportate su programma Excel per la rielaborazione statistica delle informazioni anagrafiche (età, sesso, nazionalità, residenza, ASL di appartenenza), delle informazioni raccolte sulla base del ricordo dei soggetti o dei genitori circa lo stato vaccinale o di pregressa malattia infettiva. Sia le informazioni anagrafiche che quelle relative alle risposte date nel questionario sono state espresse in percentuali.

2.9 Conferma dello stato vaccinale e anamnestico

La dichiarazione di assenso alla consultazione dei registri in anagrafe vaccinale o dei registri di sorveglianza della malattie infettive ha permesso di confermare il reale stato

di immunizzazione (vaccinato/non vaccinato) e di pregressa malattia, potendo in seguito distinguere il tipo di immunità acquisita da ciascun soggetto:

- Per via naturale a causa di una pregressa infezione: nei soggetti in cui è stata confermata la malattia e la non vaccinazione
- Mediante vaccinazione: per i soggetti mai ammalati di cui si è raccolto il dato di avvenuta vaccinazione.

Avvalendosi dei sistemi di anagrafe vaccinale **SISPC** e **Caribel** è stato possibile ricavare lo stato vaccinale dei soggetti arruolati per ciascuna delle malattie infettive oggetto dello studio, il numero di dosi ricevute, l'anno dell'ultima dose di vaccino somministrata, e quando riportato, anche il nome commerciale dell'ultimo vaccino ricevuto.

Per la valutazione dello stato anamnestico è stato consultato il registro elettronico di notifica delle malattie infettive **Epi Info** dell'Azienda USL Toscana Centro.

2.10 Valutazione del grado di concordanza fra ricordo vaccinale e anagrafe vaccinale

È stata costruita una variabile per poter valutare il grado di concordanza fra il ricordo della vaccinazione espresso nel questionario e quanto registrato in anagrafe vaccinale (vaccinato + data di vaccinazione oppure immunità naturale/protetto). In Tabella 7 è riportata la scala di valutazione a 4 punti (da 0 a 3) applicata per la descrizione della qualità del ricordo: è stato attribuito il punteggio pari a 3 quando è ottima la concordanza fra ricordo e anagrafe vaccinale ed un punteggio pari a 0 quando non è stata riscontrata alcuna concordanza.

Tabella 7: Valutazione del grado di concordanza fra ricordo espresso nel questionario e anagrafe vaccinale.

RICORDO (questionario)		Anagrafe vaccinale	Punteggio grado di concordanza
Vaccinazione	Anno		
SI	NON SO	SI	2
		NO	0
SI	SI	SI	3
		NO	0
		SI, MA ANNO DIFFERENTE	2
NO	NO	SI	0
		NO	3
NON SO	NON SO	SI	1
		NO	1

Legenda:

- 3 = OTTIMA CONCORDANZA**
- 2 = BUONA CONCORDANZA**
- 1 = SCARSA CONCORDANZA**
- 0 = NESSUNA CONCORDANZA**

2.11 Analisi sierologiche

I campioni di siero raccolti e conservati a -20°C sono stati analizzati mediante test immunoenzimatico ELISA per la ricerca degli anticorpi verso epatite B ottenendo una valutazione quali-quantitativa di positività o negatività di ciascun campione rispetto al valore di *cut-off* indicato dall'azienda produttrice del kit sierologico. Le letture di assorbanza sono state effettuate con lettore per micropiastre Infinite F50 di Tecan che si avvale del *software* **Magellan for F50**, le misurazioni ottenute sono state riportate su database Excel.

La valutazione dello stato di immunità/suscettibilità verso l'epatite B ha richiesto l'uso di due diversi kit procedendo prima con il dosaggio quantitativo degli anticorpi anti-HBs (anticorpi diretti verso l'antigene di superficie del virus HBV) e successivamente con quello qualitativo degli anticorpi anti-HBc (diretti verso l'antigene *core* del virus). In caso di campioni positivi all'anti-HBc e negativi all'anti-HBs, questi sarebbero stati analizzati per la ricerca dell'antigene di superficie nel siero. La combinazione dei tre marcatori sierologici consente infatti di valutare se un soggetto ha un'infezione acuta o cronica da HBV, è immune all'HBV a seguito di una precedente infezione o vaccinazione, o se è suscettibile all'infezione (Tabella 8) [126].

Tabella 8: Interpretazione dei risultati sierologici per l'epatite B. *: per discriminare se l'infezione è acuta o cronica è necessario eseguire il dosaggio di IgM Anti-HBc. Fonte: CDC, <https://www.cdc.gov/hepatitis/hbv/pdfs/serologicchartv8.pdf> [126].

Dosaggio Anti-HBs	Dosaggio Anti-HBc totali	Dosaggio HBsAg	Significato immunologico
-	-	-	Suscettibile
+	+	-	Immune per infezione naturale
+	-	-	Immune per vaccinazione
-	+	+	Infezione (acuta/cronica)*
-	+	-	Interpretazione dubbia: <ul style="list-style-type: none"> - Infezione risolta (molto comune) - Falso positivo per Anti-HBc, quindi suscettibile - "Livelli bassi" di infezione cronica - Infezione acuta risolta

2.11.1 Determinazione quantitativa degli anticorpi diretti contro l'antigene di superficie dell'epatite B (anti-HBs)

La rilevazione degli anticorpi anti-HBs nel siero è fondamentale per determinare la completa remissione dall'infezione e per l'acquisizione dell'immunità, sia di tipo naturale (dovuta all'infezione da HBV), sia come risposta alla vaccinazione. È stato utilizzato il kit ETI-AB-AUK-3 di DiaSorin, che si avvale del metodo a dosaggio immunometrico diretto, non competitivo di tipo *sandwich*: la presenza degli anticorpi anti-HBs nel campione, media il legame del tracciante (HBsAg coniugato con l'enzima perossidasi di rafano - HRP) alla fase solida, pertanto l'attività enzimatica risulta proporzionale alla concentrazione di anticorpi anti-HBs presente nei campioni o nei calibratori. La misura dell'attività enzimatica si esegue aggiungendo una soluzione incolore di cromogeno/substrato (tetrametilbenzidina/perossido di idrogeno: TMB/H₂O₂), che in seguito all'azione dell'enzima produce una colorazione misurabile mediante fotometro dopo l'aggiunta del reattivo bloccante (acido solforico) (Figura 20).

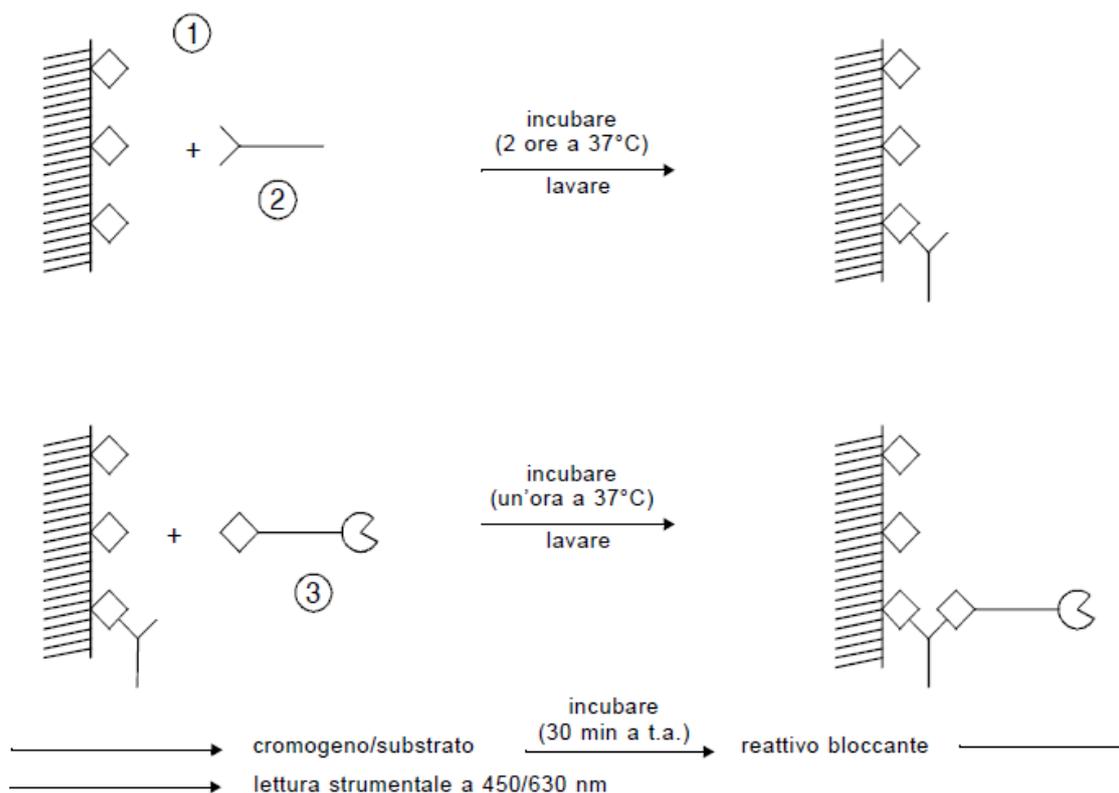


Figura 20: Schema del principio del dosaggio degli anticorpi Anti-HBs. Fonte: Scheda tecnica di ETI-AB-AUK-63, DiaSorin.

Per ciascun pozzetto è stata eseguita una lettura a 450/620 nm e a 405/620 nm entro 30 minuti dall'aggiunta del reattivo bloccante.

Sono state considerate valide tutte le letture che hanno rispettato i seguenti criteri validazione riportati nella scheda tecnica del kit:

- Valore di assorbanza del pozzetto del bianco (BLK) compreso fra 0,000-0,150

$$0,000 \leq BLK \leq 0,150$$

- Assorbanza del controllo negativo (CN) minore di 0,100

$$CN \leq 0,100$$

- Assorbanza del calibratore 1 (Cal1) compresa fra 0,035 e 0,300

$$0,035 \leq Cal1 \leq 0,300$$

- Rapporto fra assorbanza del Cal 1 e del CN maggiore o uguale a 2,0

$$\frac{Cal1}{CN} \geq 2,0$$

- Rapporto fra assorbanza del calibratore 4 (Cal4) e quella del calibratore 3 maggiore o uguale a 1,2

$$\frac{Cal4}{Cal3} \geq 1,2$$

È stata calcolata una costante K come il rapporto fra il valore di assorbanza a 450 nm e quello a 405 nm per ogni campione e calibratore che alla lettura a 450 nm avesse un'assorbanza compresa fra 1,0-1,9.

$$K = \frac{\frac{A450}{A620}(nm)}{\frac{A405}{A620}(nm)}$$

È stato poi ricavato un K medio (\bar{K}) come media dei differenti K calcolati e utilizzato per normalizzare i valori di assorbanza a 450 nm superiori alla capacità di lettura del fotometro, moltiplicando il valore di \bar{K} per il valore di assorbanza a 405 nm dei campioni o calibratori con assorbanza fuori scala.

Per il calcolo dei risultati nell'intervallo di misura 10-1000 mUI/ml è stata applicata la funzione di Rodbard (a 4 parametri), le concentrazioni di anti-HBs dei singoli campioni sono state ottenute mediante utilizzo di *software* libero myassays.com (<https://myassays.com/>).

Una concentrazione anticorpale anti-HBs maggiore di 10 mUI/ml è stata considerata protettiva.

2.11.2 Determinazione qualitativa degli anticorpi totali anti-antigene *core* del virus dell'epatite B (anti-HBc)

In caso di infezione acuta da epatite B è possibile rilevare la presenza di anticorpi anti-HBc totali poco prima che un soggetto sviluppi i sintomi clinici tipici della patologia e subito dopo la comparsa dell'antigene di superficie dell'HBV nel sangue. Gli anticorpi anti-HBc appartenenti alla classe delle IgG persistono nel tempo in tutte quelle persone che hanno avuto in precedenza un'infezione causata dal virus dell'epatite B, indipendentemente dal suo sviluppo. Generalmente i titoli anticorpali totali anti-HBc rimangono più alti nei portatori cronici e solo in una piccola percentuale di casi possono diminuire nel tempo fino a non essere più misurabili molti anni dopo l'infezione. La

rilevazione degli anti-HBc totali è possibile anche in assenza di altri indicatori dell'epatite B: questo risultato può essere indicativo di un'infezione recente (paziente nella finestra immunologica HBsAg/anti-HBs) o di un'infezione contratta in un passato non recente (in questo caso sono rilevabili anche gli anticorpi anti-HBs).

Per la determinazione qualitativa degli anti-HBc totali nei campioni di siero umano è stato usato il kit ETI-AB-COREK-PLUS di DiaSorin, il quale si basa su un dosaggio competitivo mediante pozzetti di polistirene rivestiti da anticorpi monoclonali murini diretti contro HBcAg e l'uso di una soluzione neutralizzante (contenente HBcAg ricombinante) e di un tracciante enzimatico costituito da anticorpi umani anti-HBc coniugati con HRP per rilevare la presenza di complessi HBcAg/Anti-HBc catturati sul pozzetto.

Se un campione non contiene anticorpi anti-HBc, l'enzima legato (HRP) riduce chimicamente il substrato H₂O₂ che a sua volta ossida il cromogeno (TMB) sviluppando un colore blu (650 nm) che vira al giallo (450 nm) dopo l'aggiunta della soluzione di stop. Se un campione contiene anticorpi anti-HBc, il pozzetto rimane incolore anche dopo l'aggiunta del cromogeno substrato e della soluzione di stop. L'intensità del colore, misurata allo spettrofotometro, è inversamente indicativa della presenza di anticorpi totali anti-HBc.

Per ciascun pozzetto è stata eseguita una lettura a 450/620 nm entro 30 minuti dall'aggiunta del reattivo bloccante.

Sono state considerate valide tutte le letture che hanno rispettato i seguenti criteri di validazione, forniti dalla casa produttrice del kit:

- Valore di assorbanza del pozzetto del bianco (BLK) compreso fra 0,000-0,150

$$0,000 \leq BLK \leq 0,150$$

- Media dell'assorbanza del calibratore superiore 0,500 e inferiore a 2,500:

$$0,500 \leq Cal \bar{x} \leq 2,500$$

- Il valore di assorbanza dei singoli calibratori superiore a 0,500 e inferiore a 2,500

$$0,500 \leq Cal \leq 2,500$$

Se un valore non rientra nei limiti definiti è necessario scartarlo e ricalcolare la media fra i due valori rimanenti. Se più di un valore non rientra nei limiti definiti, il dosaggio non è accettabile e deve essere ripetuto.

- L'assorbanza del controllo negativo deve essere superiore a 0,500 e inferiore a 2,500

$$0,500 \leq CN \leq 2,500$$

- L'assorbanza del controllo positivo deve essere superiore a -0,020 e inferiore a 0,350

$$0,020 \leq CP \leq 0,350$$

- La differenza fra l'assorbanza del CN e dell'assorbanza del CP deve essere maggiore di 0,250

$$CN - CP > 0,250$$

Il valore soglia si ottiene moltiplicando l'assorbanza media dei valori del calibratore per 0,300 dopo la sottrazione del bianco del substrato

$$\text{valore soglia} = 0,300 \cdot Cal \bar{x}$$

È stata definita come "zona grigia" l'intervallo di valori di assorbanza compresi fra $\pm 10\%$ del valore soglia: i campioni con assorbanza superiore alla zona grigia sono stati considerati non reattivi per gli anticorpi anti-HBc (negativi), i campioni con assorbanza inferiore alla zona grigia sono stati considerati reattivi (positivi: presenza di anti-HBc nel siero). Sono stati testati in duplicato i campioni che avevano valori di assorbanza compresi nella zona grigia: se il campione è risultato ripetutamente reattivo in almeno uno dei replicati è stato considerato positivo; un campione non reattivo al secondo test è stato considerato negativo.

2.12 Inserimento dei dati sierologici in database e analisi statistica

I risultati sierologici relativi a ciascuna lettura sono stati trasferiti su piattaforma Excel per la rielaborazione della validazione della lettura secondo i criteri forniti dalla casa produttrice per ciascun kit e per la valutazione dei livelli di immunità/suscettibilità di ciascun campione analizzato.

È stata condotta un'analisi statistica descrittiva dei dati sierologici per titolo anticorpale, per classe di età e in relazione all'anno dell'ultima dose di vaccino anti-epatite B ricevuta. La significatività statistica fra le differenze nei valori di frequenza dei soggetti sieropositivi appartenenti alle diverse classi d'età e in relazione all'anno di ultima dose del vaccino ricevuta è stata calcolata mediante il *Chi Square* test avvalendosi del *software* STATA 12.

2.13 Confronto dei risultati sierologici con precedenti studi sieroepidemiologici condotti sul territorio toscano

I profili di sieroprevalenza dell'epatite B risultanti dal presente studio sono stati confrontati con le analisi descrittive condotte in precedenti studi sieroepidemiologici effettuati nell'area della provincia di Firenze. In questo modo è stato possibile valutare l'andamento temporale dei livelli di immunità nei confronti dell'epatite B nei diversi gruppi di età.

3. RISULTATI

Da dicembre 2017 ad aprile 2018 si è svolto l'arruolamento dei soggetti minori presso il centro prelievi di AOUMeyer: in totale sono stati arruolati 165 soggetti di età compresa fra 1-18 anni ed inclusi nelle analisi sierologiche e nell'elaborazione delle informazioni raccolte nel questionario. Tutte le classi annuali sono state completate, ad eccezione dei diciottenni per i quali presso AOU Meyer è stato raccolto un solo campione degli 8 previsti.

Per la valutazione dei risultati delle analisi sierologiche i soggetti arruolati sono stati suddivisi in 4 classi d'età: 1-5 anni; 6-10 anni; 11-15 anni; 16-18 anni distribuiti come riportato in Tabella 9.

Tabella 9: Numerosità dei soggetti arruolati nelle diverse fasce d'età.

Fascia d'età	N soggetti arruolati
1-5 anni	49
6-10 anni	50
11-15 anni	48
16-18 anni	18
Totale	165

3.1 Informazioni anagrafiche della popolazione pediatrica e adolescente arruolata

La popolazione in studio è rappresentativa dello 0,1% della popolazione residente nella provincia di Firenze ed è costituita per il 53,3% da soggetti di sesso maschile e per il 46,7% da soggetti di sesso femminile: per la maggior parte dei soggetti arruolati il paese di origine è l'Italia (83,03%), la quota rimanente è rappresentata per il 2,42% da bambini con doppia nazionalità (Italo-brasiliana, Italo-burkinabè, Italo-marocchina); per il 5,45% da bambini provenienti da paesi dell'Europa dell'Est (Albania, Georgia, Romania e Ungheria); dall'1,82% da soggetti di origini sudamericane (Brasile e Perù); dal 4,85% di origine africana (Camerun, Marocco, Niger e Senegal) e dal 2,42% da minori provenienti dall'Asia (Bangladesh, Filippine e Pakistan). I 165 soggetti arruolati sono residenti in 32 diversi comuni della provincia di Firenze, circa il 48% di questi ha la residenza nel capoluogo toscano (Figura 21).

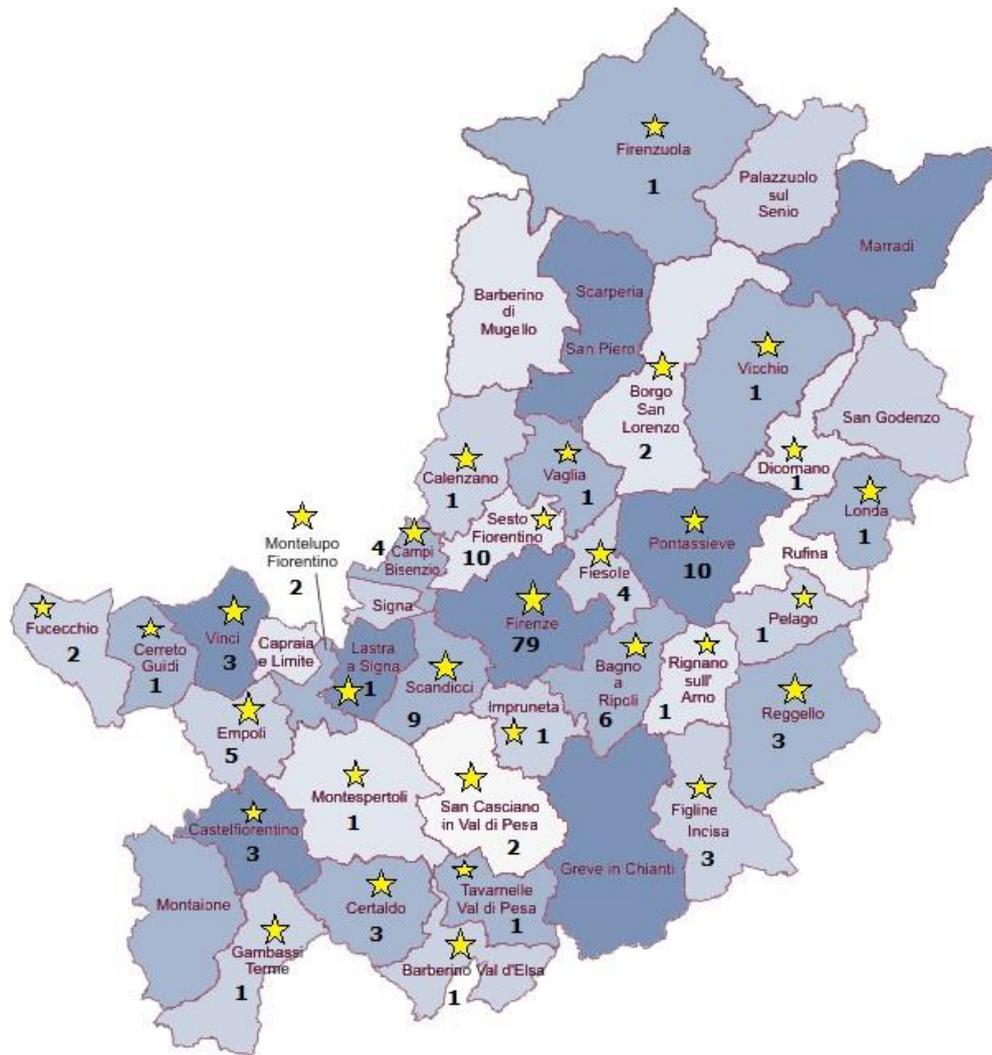


Figura 21: Comuni della città metropolitana di Firenze. Contrassegnati con una stella i comuni di residenza dei 165 soggetti arruolati e la relativa numerosità del campione in studio. Fonte: <http://www.cittametropolitana.fi.it/i-comuni/>

3.2 Analisi descrittiva delle risposte raccolte nel questionario

Il questionario è stato compilato generalmente da parte dei genitori/del genitore presenti/e sulla base del ricordo di avvenuta malattia o vaccinazione con il supporto del medico in formazione specialistica presso la Scuola di Igiene e Medicina Preventiva dell'Università di Firenze. Se disponibile, è stato consultato il libretto pediatrico (spontaneamente portato dai genitori) per ricavare l'anno di comparsa dei sintomi di una o più delle malattie indagate e l'anno di somministrazione dell'ultima dose dei vaccini anti-morbillo, rosolia, varicella, epatite B, epatite A e tetano.

Il 100% dei soggetti arruolati ha confermato lo stato di immunocompetenza e ha fornito l'autorizzazione alla consultazione dei registri di anagrafe vaccinale e di sorveglianza delle malattie infettive.

3.2.1 Valutazione del ricordo anamnestico

Fra le malattie incluse nel questionario una percentuale maggiore di soggetti ricorda di aver avuto la varicella (25,45%), mentre nessun soggetto ha dichiarato di aver avuto in passato epatite A ed epatite B; per morbillo e rosolia la frequenza di risposte affermative è molto bassa (1,21%). In generale prevale quindi il ricordo di non avvenuta malattia, con frequenze molto elevate di risposte negative per morbillo (94,55%); rosolia (95,15%); epatite B (98,18%); epatite A (97,58%) e con valori leggermente più bassi per la varicella (69,70%). La frequenza con cui è stato espresso il ricordo incerto di una malattia (non ricordo/non so) risulta essere piuttosto basso per tutte le malattie indagate (1,82-4,85%) (Figura 22; Tabella 10).

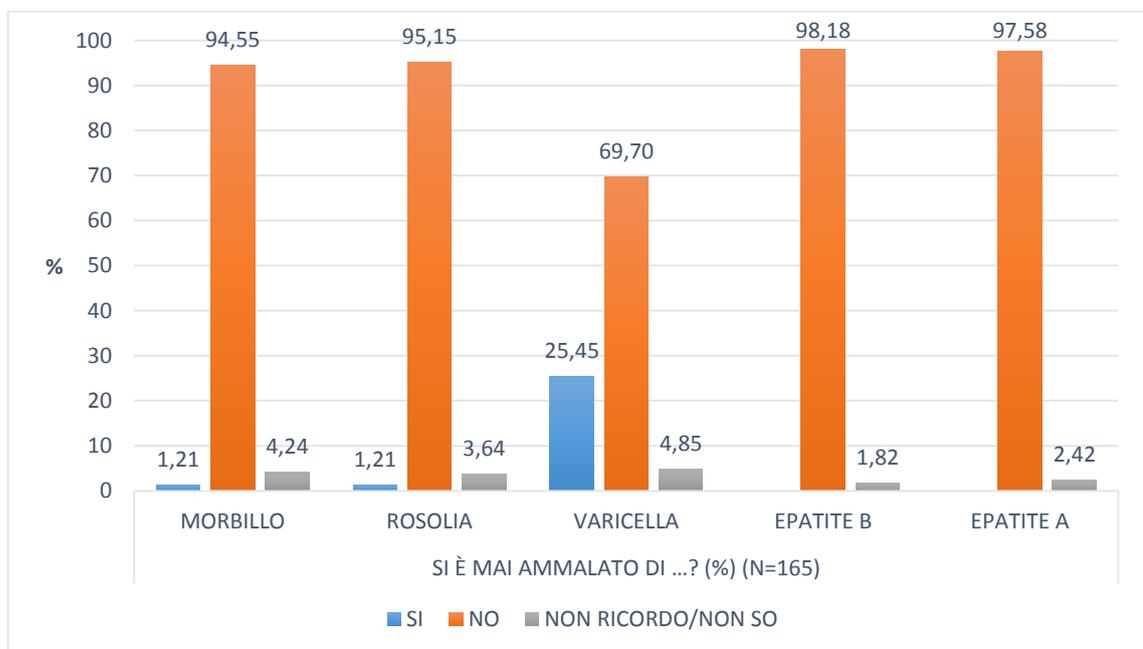


Figura 22: Malattie avute sulla base del ricordo (%). Frequenze delle risposte alle domande n.3; 7; 14; 18 e 22 del questionario somministrato ai soggetti arruolati ed inclusi nello studio.

Dalle risposte alle domande “Se sì, in quale anno si è ammalato di morbillo (n. 4)/rosolia (n.8)/varicella (n.15)?” è stato valutato il ricordo temporale di avvenuta malattia per morbillo, rosolia e varicella: nei due soggetti che hanno dichiarato di aver avuto il morbillo, solo per un bambino è stato recuperato l’anno, nessun ricordo temporale è stato riportato per i due soggetti che hanno affermato di aver avuto la rosolia, mentre per una buona percentuale di bambini (30,39%) è stato trascritto l’anno in cui hanno avuto la varicella (Tabella 10).

Tabella 10: Frequenze delle risposte circa le malattie avute (n. 3; 7; 14; 18 e 22) e valutazione del ricordo temporale di avvenuta malattia (% risposte n.4; 8 e 15).

	SI È MAI AMMALATO DI ...? (%) (N=165)				
	MORBILLO	ROSOLIA	VARICELLA	EPATITE B	EPATITE A
SI	1,21	1,21	25,45	0,00	0,00
NO	94,55	95,15	69,70	98,18	97,58
NON RICORDO/NON SO	4,24	3,64	4,85	1,82	2,42

	SE SÌ, IN QUALE ANNO SI È AMMALATO DI ...? (%)		
	MORBILLO (N=2)	ROSOLIA (N=2)	VARICELLA (N=42)
NON RICORDO/NON SO	50,00	100,00	8,82
NESSUNA RISPOSTA	0,00	0,00	1,96
ANNO TRASCritto	50,00	0,00	30,39

Delle 13 ragazze di età compresa fra 15-18 anni, 12 hanno dichiarato di non aver mai effettuato il Rubeotest e una ragazza non ricorda (quesito n. 11), pertanto non è stata raccolta alcuna informazione circa l'esito del Rubeotest (domande n. 12-13).

3.2.2 Valutazione del ricordo di avvenuta vaccinazione

Per morbillo, rosolia, epatite B e tetano prevale il ricordo di avvenuta vaccinazione, con percentuali di risposta affermativa alle domande "È stato vaccinato per morbillo (n. 5)/rosolia (n. 9)/epatite B (n. 19)?" e "Ha effettuato il ciclo di base di tre dosi (vaccino anti-tetano) in età pediatrica (n. 26)?" superiori al 92% (rispettivamente: 92,12%; 93,33%; 94,55%; 94,55%); più bassa invece la frequenza delle risposte affermative per la varicella (domanda n. 16: 61,82%) per la quale più di un quarto del campione intervistato dichiara di non avere effettuato la vaccinazione (26,67%) e l'11,52% non ne ha il ricordo. Nel caso della vaccinazione dell'epatite A, non rientrando fra quelle raccomandate alla popolazione pediatrica generale nel calendario vaccinale attualmente in vigore in Regione Toscana, prevalgono le risposte negative (domanda n.24: 92,12%) (Figura 23; Tabella 11).

Alla domanda relativa ai richiami vaccinali della vaccinazione anti-tetanic a 5-6 anni, in adolescenza o ogni 10 anni in età adulta (n.27) il 60,61% degli intervistati ha dichiarato di aver effettuato il richiamo, il 31,52% di non aver fatto dosi di richiamo, il 5,45% non ne ha ricordo e nel 2,42% non è stata raccolta la risposta (Figura 24).

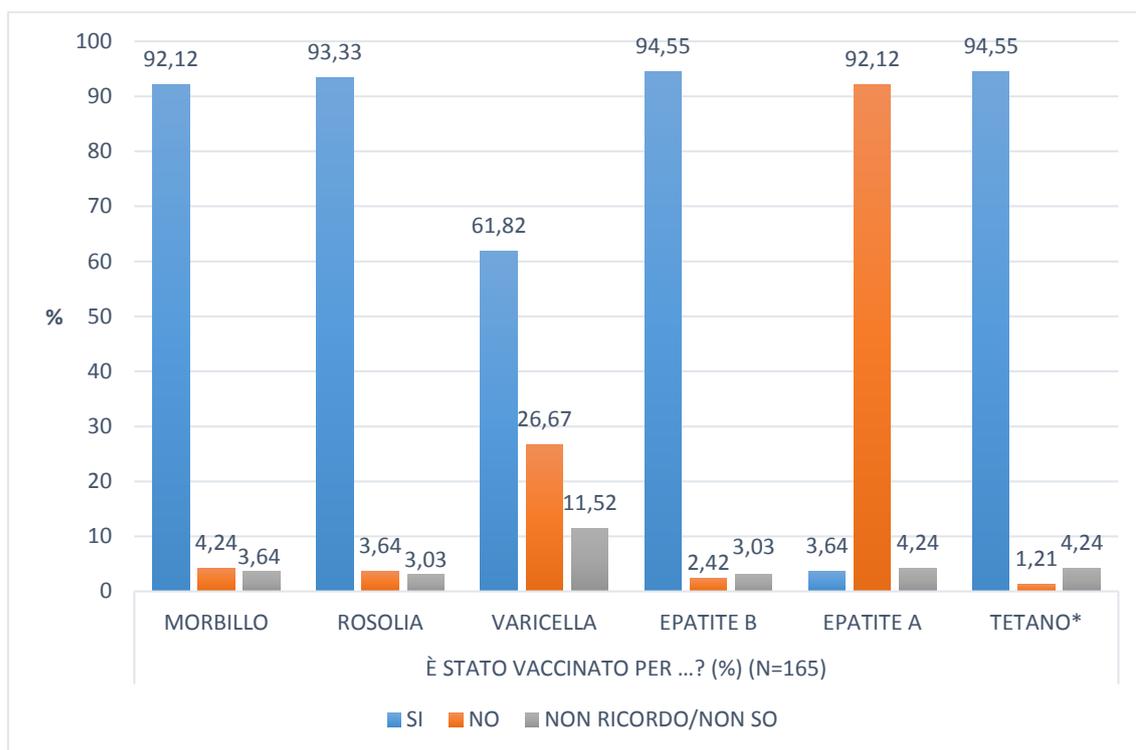


Figura 23: Vaccinazioni effettuate sulla base del ricordo (%). Frequenze delle risposte alle domande n. 5; 9; 16; 19; 24; 26 del questionario somministrato ai soggetti arruolati ed inclusi nello studio.

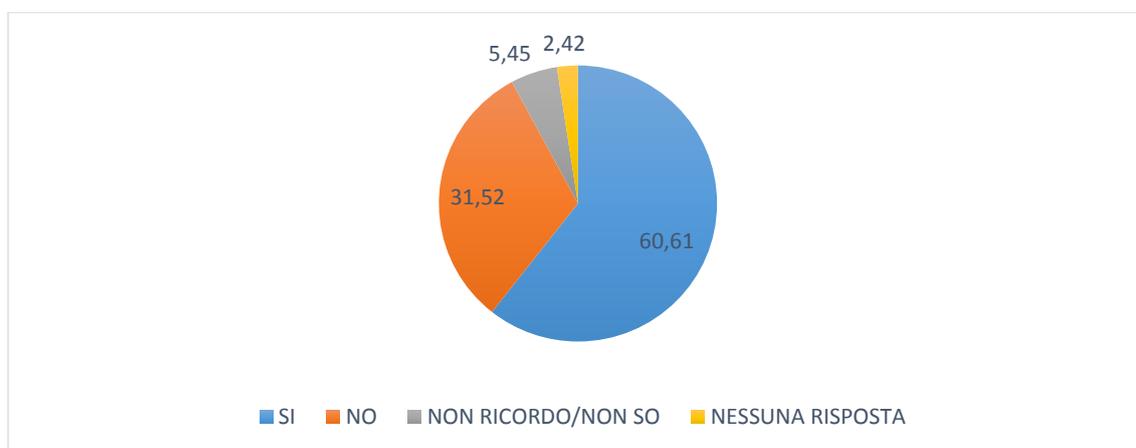


Figura 24: Percentuali delle risposte alla domanda: "Ha effettuato i richiami vaccinali (a 5-6 anni, in adolescenza o ogni 10 anni in età adulta)?" (n. 27).

Dalle risposte alle domande circa il ricordo temporale di avvenuta vaccinazione (n. 6; 10; 17; 21; 25 e 28), si osserva in generale che per oltre la metà dei soggetti che avevano dichiarato di aver ricevuto una specifica vaccinazione è stato possibile ricavare l'anno dell'ultima dose di vaccino anti-morbillo (58,55%), rosolia (58,44%), varicella (55,88%), epatite B (57,05%) e tetano (62,42%). Per la vaccinazione anti-epatite A, invece, dei sei

soggetti che avevano risposto in maniera affermativa alla domanda di avvenuta vaccinazione, solamente due persone hanno fornito l'anno di ultima dose ricevuta (Tabella 11).

Tabella 11: Frequenze delle risposte alle domande relative alle vaccinazioni effettuate (n. 5; 9; 16; 19; 24; 26) e valutazione del ricordo dell'anno di ultima dose del relativo vaccino ricevuta (n.6; 10; 17; 21; 25; 28).

	È STATO VACCINATO PER ...? (%) (N=165)					
	MORBILLO	ROSOLIA	VARICELLA	EPATITE B	EPATITE A	TETANO*
SI	92,12	93,33	61,82	94,55	3,64	94,55
NO	4,4	3,64	26,67	2,42	92,12	1,21
NON RICORDO NON SO	3,64	3,03	11,52	3,03	4,24	4,24

	SE SÌ, IN QUALE ANNO È STATO VACCINATO PER ...? (%)					
	MORBILLO (N=152)	ROSOLIA (N=154)	VARICELLA (N=102)	EPATITE B (N=156)	EPATITE A (N=6)	TETANO (N=165)°
NON RICORDO/NON SO+SECONDO C.V.	40,13	40,26	41,18	41,03	50,00	35,76
NESSUNA RISPOSTA	1,32	1,30	2,94	1,92	16,67	1,82
ANNO TRASCritto	58,55	58,44	55,88	57,05	33,33	62,42

NOTE: TETANO*: Si intende il ciclo di base di tre dosi in età pediatrica.

TETANO°: Si intende l'anno dell'ultima dose di vaccino anti-tetano ricevuta.

C. V.: Calendario Vaccinale

3.3 Conferma dello stato vaccinale e anamnestico nei confronti dell'epatite B

Dalla consultazione dei registri di anagrafe vaccinale risulta che 155 dei 165 soggetti arruolati hanno effettuato la vaccinazione anti-epatite B: di questi 145 hanno ricevuto il ciclo di base di immunizzazione a 3 dosi, 3 soggetti hanno ricevuto una dose di richiamo e un bambino ha ricevuto 2 dosi *booster*; invece 6 minori non hanno completato il ciclo di base ricevendo 1 dose (1 soggetto) o 2 dosi (5 soggetti). Per tutti i 155 soggetti vaccinati è stato raccolto l'anno dell'ultima dose di vaccino ricevuta. Infine, sei bambini arruolati figurano come non vaccinati in anagrafe vaccinale, mentre 4 bambini sono indicati come protetti per immunità naturale.

Fra i soggetti che in anagrafe vaccinale risultano vaccinati, in 40 è stato somministrato il vaccino Infanrix hexa, a 9 bambini Hexyon, 3 bambini hanno ricevuto il vaccino monovalente Engerix B, 2 bambini hanno avuto Vaxelis e un solo bambino ha ricevuto

Hexavac. Questa informazione non è disponibile per i 100 soggetti vaccinati rimanenti. Dei cinque diversi vaccini anti-epatite B che sono stati somministrati come ultima dose, solo il vaccino Hexavac risulta attualmente non autorizzato dall'AIFA (revocato dal 2005).

Infine, dalla consultazione dei registri di malattie infettive, è emerso che in nessun soggetto arruolato nello studio è stata notificata l'infezione da HBV.

3.4 Valutazione del grado di concordanza fra ricordo di vaccinazione anti-epatite B e anagrafe vaccinale

La consultazione dei registri di anagrafe vaccinale ha permesso di confrontare le informazioni raccolte nel questionario relative alla vaccinazione anti-epatite B e quelle presenti in anagrafe vaccinale.

Circa il 92% dei 155 soggetti per cui in anagrafe vaccinale risulta la vaccinazione ha ricordato correttamente di aver effettuato la vaccinazione e solamente 2 soggetti hanno indicato esser stati vaccinati ma tale informazione non è presente in anagrafe vaccinale. Dei 4 soggetti che in anagrafe vaccinale sono indicati come "protetti/immunità naturale", due hanno riportato nel questionario di aver eseguito la vaccinazione, mentre i due rimanenti non ne hanno il ricordo (Tabella 12).

Tabella 12: Confronto fra ricordo vaccinale per epatite B raccolto nei questionari somministrati ai soggetti arruolati e le informazioni registrate in anagrafe vaccinale.

		QUESTIONARIO			
		SI	NO	NON RICORDO/NON SO	
ANAGRAFE VACCINALE	VACCINATO	N	152	1	2
		%	92,12	0,61	1,21
	NON VACCINATO	N	2	3	1
		%	1,21	1,82	0,61
	IMMUNITÀ NATURALE/PROTETTO	N	2	0	2
		%	1,21	0,00	1,21

Per la vaccinazione anti-epatite B è stato inoltre analizzato il grado di concordanza fra il ricordo di avvenuta vaccinazione raccolto nel questionario e lo stato vaccinale riportato in anagrafe vaccinale in relazione all'età dei soggetti arruolati, secondo una scala di valutazione a 4 punti. Dall'analisi dei risultati emerge che nella maggior parte dei soggetti di 1-6 anni di età ci sia una concordanza ottima fra ricordo della vaccinazione

anti-epatite B da parte dei genitori/tutori e stato vaccinale registrato in anagrafe vaccinale (74,14%) e che in generale il grado di concordanza tende ad essere buono nei soggetti di 7-12 anni (62,3%) e buono/ottimo negli adolescenti di 13-18 anni. Infatti entrambi i gradi di concordanza riportano frequenze del 45,65%. Le differenze nelle frequenze relative a ciascuno dei quattro gradi di concordanza stimate nelle tre classi di età risultano statisticamente significative al *Chi Square* test ($\text{Chi}^2=23,8110$ $P=0,001$, Tabella 13). In particolare l'età del soggetto risulta una variabile associata al grado di concordanza del ricordo, infatti nella classe di età dei bambini di 1-6 anni è stata calcolata la frequenza più elevata per la concordanza ottima fra ricordo e stato vaccinale riportato in anagrafe vaccinale.

Tabella 13: Frequenze del grado di concordanza fra ricordo di vaccinazione raccolto nel questionario e lo stato vaccinale registrato in anagrafe vaccinale, suddivise in tre classi di età.

Classe d'età		Grado di concordanza del ricordo con anagrafe vaccinale				Totale
		0 (Nessuna)	1 (Scarsa)	2 (Buona)	3 (Ottima)	
1-6 anni	N	1	0	14	43	58
	%	1,72	0,00	24,14	74,14	100,00
7-12 anni	N	1	2	38	20	61
	%	1,64	3,28	62,30	32,79	100,00
13-18 anni	N	1	3	21	21	46
	%	2,17	6,52	45,65	45,65	100,00
Totale		3	5	73	84	165
		1,82	3,03	44,24	50,91	100,00
		Chi²=23,8110		P=0,001		

3.5 Analisi sierologiche per epatite B

Per le analisi sierologiche dei 165 campioni raccolti sono state effettuate in totale sei sedute sierologiche; tre per la valutazione quantitativa dei titoli anticorpali anti-HBs e tre per la ricerca qualitativa degli anticorpi anti-HBc, comprese le valutazioni ripetute in caso di risultati dubbi.

3.5.1 Analisi quantitativa degli anticorpi anti-HBs

La ricerca quantitativa degli anticorpi anti-HBs ha evidenziato che il 59,4% dei soggetti arruolati ha titoli anticorpali protettivi ($\geq 10\text{mUI/ml}$). In generale si osserva che la fascia d'età 16-18 anni è caratterizzata da un maggior numero di soggetti con titoli anticorpali non rilevabili (61,1%), valore che tende a diminuire nei gruppi più giovani e raggiunge il

minimo nei bambini di 1-5 anni (18,4%). Nessun soggetto di 16-18 anni ha titoli anti-HBs superiori a 500 mUI/ml (Figura 25, Tabella 14)

La distribuzione dei soggetti delle diverse classi d'età in relazione alla concentrazione anticorpale misurata mostra, come atteso, che i bambini di 1-5 anni presentano le concentrazioni anti-HBs maggiori costituendo l'80% dei sieri a titoli elevati (≥ 500 mUI/ml), mentre un andamento opposto si verifica per gli adolescenti di 11-15 anni in cui solo il 6,7% presenta i livelli più elevati di concentrazione anticorpale e di 16-18 anni per i quali i titoli massimi sono inferiori a 500 mUI/ml (Figura 26, Tabella 14)

Le differenze delle proporzioni calcolate nella distribuzione dei titoli anticorpali nelle diverse fasce d'età e nella distribuzione dei soggetti delle diverse classi di età in relazione alle concentrazioni anti-HBs risultano statisticamente significative al *Chi Square* test ($\text{Chi}^2=39,8306$; $P<0,0001$) (Tabella 14). In particolare, confrontando la percentuale dei soggetti sieronegativi nella classe di età 1-5 anni, che risulta pari al 18,37%, rispetto alle altre classi di età in cui la percentuale dei sieronegativi è del 38% nei soggetti di 6-10 anni, del 58,33% nei soggetti di 11-15 anni e del 61,11% nei soggetti di 16-18 anni, le differenze calcolate sono statisticamente significative.

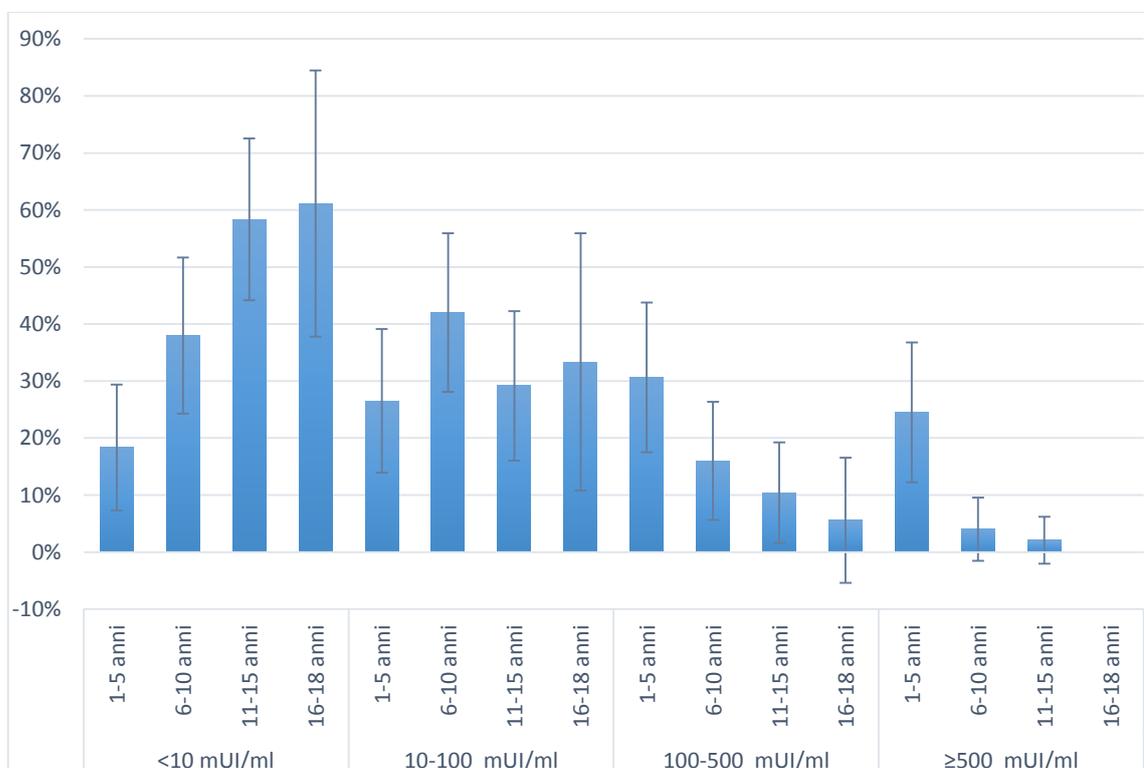


Figura 25: Distribuzione (%) dei titoli anticorpali anti-HBs nelle diverse classi di età.

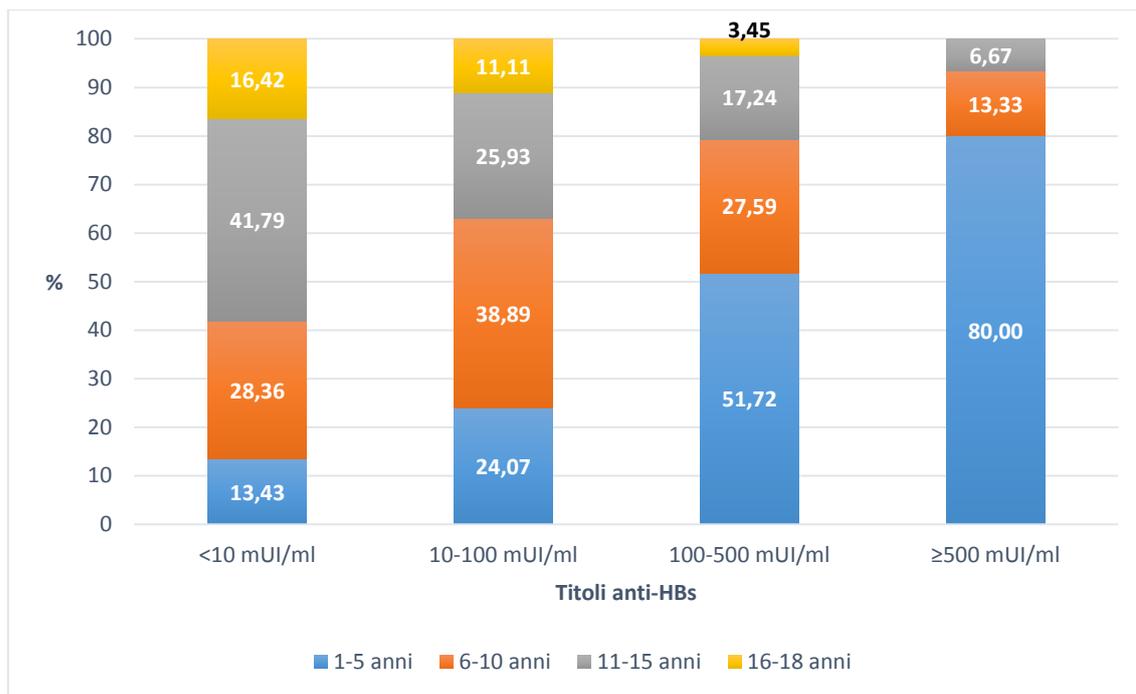


Figura 26: Distribuzione (%) dei soggetti delle diverse classi di età in relazione alla concentrazione anticorpale.

Tabella 14: Distribuzione dei titoli anticorpali nelle diverse classi di età (% [Anti-HBs]) e dei soggetti delle diverse classi di età in relazione alla concentrazione anticorpale (% soggetti).

		<10 mUI/ml	10-100 mUI/ml	100-500 mUI/ml	≥500 mUI/ml	Totale
1-5 anni	N	9	13	15	12	49
	% [Anti-HBs]	18,37	26,53	30,61	24,49	100,00
	% soggetti	13,43	24,07	51,72	80,00	29,70
6-10 anni	N	19	21	8	2	50
	% [Anti-HBs]	38,00	42,00	16,00	4,00	100,00
	% soggetti	28,36	38,89	27,59	13,33	30,30
11-15 anni	N	28	14	5	1	48
	% [Anti-HBs]	58,33	29,17	10,42	2,08	100,00
	% soggetti	41,79	25,93	17,24	6,67	29,09
16-18 anni	N	11	6	1	0	18
	% [Anti-HBs]	61,11	33,33	5,56	0,00	100,00
	% soggetti	16,42	11,11	3,45	0,00	10,91
Totale	N	67	54	29	15	165
	% [Anti-HBs]	40,61	32,73	17,58	9,09	100,00
	% soggetti	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
		Chi2=39,8306		P<0,0001		

Dalla consultazione dei registri di anagrafe vaccinale risulta che 155 soggetti arruolati hanno effettuato la vaccinazione anti-epatite B, di questi 149 hanno ricevuto 3 o più dosi del vaccino, hanno dunque effettuato almeno il ciclo di immunizzazione di base. È stata riscontrata una percentuale pari al 39% dei riceventi il ciclo completo a 3 dosi (o ulteriori dosi di richiamo) i cui titoli anticorpali non sono rilevabili, ovvero al di sotto della soglia di 10 mUI/ml, considerata protettiva.

La valutazione dei livelli di immunità in relazione all'anno di ultima dose di vaccino anti-epatite B ricevuta mostra che sono presenti concentrazioni protettive fino a 16 anni dall'ultima dose, concentrazioni anticorpali più alte si riscontrano in un'ampia numerosità di soggetti che ha ricevuto l'ultima dose fino ad 11 anni prima (Figura 27).

La valutazione statistica mediante il *Chi Square* test dei diversi livelli di immunità in relazione all'anno di ultima dose di vaccino ricevuta mostra che le differenze nelle percentuali calcolate sono significative ($\chi^2=30,3542$; $p<0,0001$) dunque il tempo trascorso dalla somministrazione dell'ultima dose di vaccino è associato ai diversi livelli di immunità; in particolare, quanto più è recente la vaccinazione, tanto maggiore è la concentrazione degli anti-HBs circolanti (Tabella 15). Infine, il test del Chi quadro mostra invece che l'età anagrafica a cui il soggetto ha ricevuto l'ultima dose del vaccino anti-epatite B non è associata ai diversi livelli anticorpali misurabili ($\chi^2=4,5661$; $P=0,601$) (Tabella 16).

Pertanto il tempo trascorso dall'ultima dose di vaccino ricevuta e l'età del soggetto al momento dell'arruolamento sono associati ai diversi livelli anti-HBs misurati, in linea con il fatto che la maggior parte dei soggetti si è vaccinata secondo calendario.



Figura 27: Valutazione dei livelli di immunità in relazione all'anno di ultima dose di vaccino anti-epatite B ricevuta.

Tabella 15: Distribuzione dei titoli anticorpali in relazione all'anno di ultima dose di vaccino anti-epatite B ricevuta (N=155).

		<10 mUI/ml	10-100 mUI/ml	100-500 mUI/ml	≥500 mUI/ml	Totale
2000-2006	N	29	17	3	0	49
	% [Anti-HBs]	59,18	34,69	6,12	0,00	100,00
	% soggetti	46,77	33,33	10,71	0,00	31,61
2007-2012	N	22	19	10	3	54
	% [Anti-HBs]	40,74	35,19	18,52	5,56	100,00
	% soggetti	35,48	37,25	35,71	21,43	34,84
2013-2018	N	11	15	15	11	52
	% [Anti-HBs]	21,15	28,85	28,85	21,15	100,00
	% soggetti	17,74	29,41	53,57	78,57	33,55
Totale		62	51	28	14	155
		40,00	32,90	18,06	9,03	100,00
		100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
		Chi2=39,8306	P<0,0001			

Tabella 16: Distribuzione dei titoli anticorpali in relazione all'età anagrafica a cui è stata somministrata l'ultima dose di vaccino anti-epatite B.

Età ultima dose		<10 mUI/ml	10-100 mUI/ml	100-500 mUI/ml	≥500 mUI/ml	Totale
0-12 mesi	N	36	37	16	10	99
	% [Anti-HBs]	36,36	37,37	16,16	10,10	100,00
13-24 mesi	N	20	11	10	4	45
	% [Anti-HBs]	44,44	24,44	22,22	8,89	100,00
>24 mesi	N	6	3	2	0	11
	% [Anti-HBs]	54,55	27,27	18,18	0,00	100,00
Totale		62	51	28	14	155
		40,00	32,90	18,06	9,03	100,00
		Chi2=4,5661		P=0,601		

3.5.2 Analisi qualitativa per la ricerca degli anticorpi anti-HBc

Tutti i 165 sieri analizzati sono risultati negativi per l'anticorpo *core*, pertanto non è stata effettuata la ricerca dell'antigene di superficie.

4. DISCUSSIONE

4.1 Arruolamento dei soggetti pediatrici

Per la realizzazione del presente lavoro, il Dipartimento di Scienze della Salute ha promosso per la prima volta una campagna di raccolta sieri attiva strutturando un *team work* esperto in merito ai contenuti del progetto. Il gruppo di lavoro creatosi si è interfacciato con gli utenti afferenti al centro prelievi dell'Azienda Ospedaliera Universitaria Meyer, bambini e ragazzi accompagnati dai genitori, potenziali candidati per l'arruolamento e l'inclusione nello studio. L'arruolamento, quindi, non ha rappresentato esclusivamente una fase indispensabile per la realizzazione della ricerca, ma è stata anche un'importante occasione di divulgazione delle attività scientifiche promosse dal Dipartimento di Scienze della Salute dell'Università di Firenze e dalle aziende ospedaliere della provincia di Firenze, e di *counseling* per promuovere l'importanza della vaccinazione, cercando, quando possibile, di risolvere eventuali dubbi o di approfondire le curiosità delle persone intervistate. A supporto di questa fase di comunicazione con la popolazione generale è stato pertanto preparato del materiale illustrato specifico, ovvero un poster dedicato alla descrizione del progetto e affisso nei locali dell'ospedale pediatrico (Allegato H) e una *brochure* sui vaccini e i falsi miti che oggi circolano sul *web* (Allegato I) che è stata consegnata a tutti i soggetti intervistati.

4.2 Analisi dei questionari

Dalla valutazione complessiva delle risposte relative alle malattie che i soggetti intervistati possono aver avuto nell'arco della loro vita, prevale il ricordo dell'assenza della malattia con percentuali $\geq 94\%$ per morbillo, rosolia, epatite A ed epatite B e di circa il 70% per la varicella, con nessun caso di epatite B ed epatite A riportato nel questionario.

Queste elevate frequenze di "non avvenuta" malattia riflettono l'efficacia dell'estensione di programmi di immunizzazione avviati in passato nel nostro Paese, già a partire dagli anni '60 per la vaccinazione anti-tetanea (diventa obbligatoria al primo anno di vita nel 1968) [127], e successivamente negli anni '90 con l'introduzione dell'obbligatorietà del vaccino anti-epatite B per tutti i nuovi nati e per di dodicenni dal 1991 [78] e con l'introduzione nei calendari di immunizzazione nazionale del vaccino

verso il morbillo e la rosolia [11] che hanno permesso quindi di modificare l'epidemiologia di queste malattie infettive, con una diminuzione dei nuovi casi e dell'incidenza nell'ultimo decennio, fatta eccezione per il morbillo che a partire dal 2017 ha visto il manifestarsi di una vera e propria epidemia a livello nazionale, epidemia che continua ancora nel 2018 [37, 38, 128]. L'introduzione più recente dell'offerta attiva e gratuita della vaccinazione anti-varicella, iniziata in Toscana a partire dal 2008 con la somministrazione della prima dose nei bambini di 14-15 mesi di vita e negli adolescenti anamnesticamente negativi di 11-14 anni, può giustificare la maggior percentuale di soggetti che hanno dichiarato di aver avuto la malattia (circa il 25%). Infatti, considerando che il 1999 è l'anno di nascita del soggetto più grande arruolato nello studio, si può ipotizzare una finestra temporale di circa 9 anni in cui i soggetti di età compresa fra 18 e 10 anni possono aver contratto la varicella in assenza dell'offerta della vaccinazione. Questo è confermato dal fatto che dei 42 soggetti che hanno dichiarato durante la compilazione del questionario di aver avuto la malattia, 37 hanno un'età compresa fra 10 e 18 anni.

È tuttavia necessario confermare il ricordo della malattia per morbillo, rosolia, varicella ed epatite A mediante la consultazione dei registri delle malattie infettive al fine di ridurre il *bias* anamnestico, sebbene per alcune malattie infettive il grado di eventuale sottonotifica potrebbe inficiare questo tentativo di riduzione del *bias* anamnestico. Ad esempio, nel caso della varicella si stima un livello di sottonotifica intorno al valore 5 a livello italiano, con differenze tra le varie regioni [129, 130].

L'analisi del ricordo vaccinale mostra che per la vaccinazione anti-morbillo, rosolia, epatite B e tetano è presente il ricordo in almeno il 92% dei soggetti, una percentuale più bassa (circa il 62%) ricorda invece la vaccinazione anti-varicella. Anche in questo caso, le differenti percentuali riflettono il diverso momento di introduzione delle vaccinazione nei programmi di immunizzazione, con la vaccinazione anti-varicella offerta a partire dagli ultimi 10 anni.

Quasi il 92% della popolazione ha invece dichiarato di non aver mai effettuato la vaccinazione anti-epatite A, infatti non rientrando fra le vaccinazioni raccomandate ed offerte alla popolazione pediatrica generale del Calendario Vaccinale del PNPV 2017-

2019 [31] e del calendario della Regione Toscana, è attesa una percentuale elevata di popolazione non vaccinata.

Il ricordo della vaccinazione per epatite B è stato confermato con le informazioni raccolte in anagrafe vaccinale: dei 155 soggetti che risultano aver ricevuto almeno una dose di vaccino anti-epatite B (circa il 94% della popolazione arruolata), il 92% ha ricordato di aver effettuato la vaccinazione rispondendo in maniera affermativa alla relativa domanda del questionario. Solo due soggetti ritengono di aver effettuato in passato la vaccinazione, ma questa informazione non risulta dall'anagrafe vaccinale. Se ne deduce quindi che il ricordo della vaccinazione si avvicina a quanto registrato in anagrafe vaccinale, grazie anche alla possibilità di poter consultare in molti casi il libretto pediatrico portato dai genitori, e che è presente una bassa percentuale (1,21%) di soggetti che si ritiene "falsamente" protetta e dunque suscettibile.

Il ricordo dei genitori circa le vaccinazioni effettuate dai propri figli è un indicatore che può essere utilizzato per stimare le coperture vaccinali, infatti, nonostante attualmente siano disponibili registri vaccinali informatizzati e aggiornati, le informazioni che essi contengono non sempre sono fruibili dai ricercatori o dal personale non sanitario. Quindi la somministrazione di questionari ai genitori può essere un valido strumento per stimare le coperture vaccinali: questa modalità di ricerca è spesso applicata in Canada [131, 132], negli Stati Uniti [133] e in altri paesi sviluppati [134].

Uno studio condotto in Canada ha valutato quanto sia accurato il ricordo dello stato vaccinale da parte dei genitori comparandolo con le informazioni raccolte nei registri vaccinali informatizzati (*Primary Health Activity Network and Timely Information Management – PHANTIM*) [135]. La popolazione in studio era rappresentata da un totale di 988 madri residenti nella città di Calgary (Alberta, Canada) che hanno completato tre questionari ricevuti per posta che includevano domande circa le vaccinazioni somministrate ai figli a 2, 4, 6, 12 e 18 mesi di vita fra quelle previste nei programmi di immunizzazione di routine (vaccino pentavalente DTPa-IPV-Hib, pneumococcico 7-valente coniugato o pneumococcico 13-valente coniugato, MPR, V o MPRV e meningococcico C coniugato). I questionari sono stati inviati in differenti momenti: il primo quando il figlio aveva 1 anno, il secondo a 2 anni e l'ultimo a tre anni del bambino. La comparazione delle risposte ottenute dal questionario con le informazioni raccolte

nel registro PHANTIM ha evidenziato che, in un contesto generale in cui le coperture vaccinali sono elevate, la capacità dei genitori di ricordare quali vaccinazioni abbia effettuato il proprio figlio tende a non cambiare nel tempo. Inoltre è stata evidenziata una notevole sensibilità delle informazioni riportate dai genitori, cioè risulta essere elevata la percentuale delle madri che hanno indicato in maniera corretta il proprio figlio come “vaccinato” rispetto al totale dei “vaccinati” registrati in PHANTIM. Seppur con un campione di soggetti totali intervistati inferiore e appartenenti a classi di età più grandi e quindi anche oggetto di vaccinazioni diverse rispetto a quelle considerate nella ricerca canadese, anche nel presente studio è stato riscontrato un ricordo accurato da parte dei genitori circa le vaccinazioni effettuate dai propri figli. In particolare risulta essere di grado ottimo la concordanza fra ricordo della vaccinazione anti-epatite B e stato vaccinale registrato in anagrafe vaccinale da parte dei genitori dei bambini della fascia di età più piccola considerata nel presente studio (1-6 anni).

4.3 Analisi sierologiche

Complessivamente nel 60% circa della popolazione in studio sono state misurate concentrazioni anticorpali protettive ≥ 10 mUI/ml. La distribuzione dei titoli anticorpali anti-HBs mostra che la fascia pediatrica di 1-5 anni è la più positiva per anti-HBs con titoli ≥ 10 mUI/ml (81,6%) e che la percentuale di soggetti con titoli superiori alla soglia tende a diminuire nelle classi d'età più grandi.

Dei 155 soggetti arruolati che risultano vaccinati in anagrafe vaccinale, il 96% ha ricevuto il ciclo completo a 3 dosi di vaccino anti-epatite B: nel 39% di essi i titoli anticorpali non sono rilevabili, poiché a distanza di molti anni dalla vaccinazione gli anticorpi circolanti tendono a diminuire sotto la soglia di 10 mUI/ml ritenuta protettiva se misurata immediatamente dopo il completamento del ciclo vaccinale (1-3 mesi). Sebbene la positività per anti-HBs tenda a diminuire nel tempo, nel campione in studio sono state misurate concentrazioni di anti-HBs ≥ 10 mUI/ml a distanza di 16 anni dall'ultima dose di vaccino anti-epatite B ed elevati titoli anticorpali (≥ 500 mUI/ml) fino a 11 anni dopo la vaccinazione.

Dopo il ciclo primario di immunizzazione per l'epatite B la concentrazione degli anticorpi anti-HBs tende ad abbassarsi piuttosto rapidamente entro il primo anno dalla conclusione del ciclo, negli anni successivi, invece, il declino è più graduale [136, 137].

Studi sulla durata dei titoli anticorpali protettivi nella popolazione pediatrica hanno dimostrato che il 15-50% dei vaccinati *responder* ([anti-HBs] ≥ 10 mUI/ml a conclusione del ciclo di base di immunizzazione) hanno concentrazioni anticorpali basse o non misurabili a distanza di 5-15 anni dalla vaccinazione [138]. Quanto emerso nel presente lavoro circa la percentuale di soggetti con titoli anti-HBs misurabili e la durata della protezione risulta essere in linea con le informazioni raccolte in letteratura.

L'abbassamento delle concentrazioni anti-HBs al di sotto della soglia ritenuta protettiva subito dopo il ciclo vaccinale di base non implica suscettibilità del soggetto all'infezione: infatti la "memoria immunologica" permane per un periodo di tempo molto più lungo [139, 140] e si stima che il 67-76% di soggetti *responder* al ciclo di immunizzazione di base (ricevuto alla nascita) sia in grado di sviluppare una risposta anamnesticca (sieroconvertire) dopo la somministrazione di una dose *booster* del vaccino anche a distanza di 22 anni dal ciclo di base [141]. L'incapacità di sieroconvertire ad una dose *challenge* in soggetti precedentemente *responder* al ciclo primario di vaccinazione non necessariamente potrebbe significare una suscettibilità clinica verso l'infezione da HBV [142], infatti dagli studi di *follow up* condotti non emergono casi di infezione acuta o portatori cronici del virus dell'epatite B [143]. Inoltre, per una corretta valutazione della persistenza della protezione è necessario considerare anche il ruolo e la funzione svolte delle cellule B e T implicate nella risposta immunitaria. È noto che le cellule T implicate nella risposta specifica nei confronti degli antigeni dell'HBV possono essere rilevate nel sangue periferico a distanza di 5 anni dalla vaccinazione primaria e che l'efficacia della vaccinazione dipende dai diversi sottotipi di cellule T della memoria circolanti [143]. Uno studio condotto in Italia [144] ha valutato la risposta immunologica prodotta dalle cellule T in bambini che avevano ricevuto il vaccino Hexavac (revocato da AIFA nel 2005) o il vaccino Infanrix hexa durante il ciclo primario di vaccinazione con scheda da 3 dosi (a 3, 5, 11 mesi di vita): è emerso che, indipendentemente dal vaccino ricevuto e dai diversi titoli anticorpali misurabili, la risposta immunitaria mediata dalle cellule T specifiche per l'epatite B, persiste a distanza di 5 anni dalla vaccinazione. Infatti l'aggiunta in vitro di HBsAg (mimando una possibile esposizione ad HBV) è in grado di stimolare in egual misura la proliferazione delle cellule T provenienti dalle due diverse coorti di studio. L'intero corpo di informazioni raccolte in letteratura riguardo alla

memoria immunologica sviluppata a seguito della vaccinazione si può estendere alla popolazione presa in esame nel presente studio, ritenendo non suscettibili i soggetti che nonostante abbiano effettuato il ciclo di immunizzazione di base, presentano titoli anticorpali circolanti al di sotto della soglia di 10 mUI/ml.

Infine può essere osservata una risposta immunologica in soggetti vaccinati con successo (ovvero con titoli anticorpali anti-HBs ≥ 10 mUI/ml dopo 1-3 mesi dalla conclusione del ciclo di base di immunizzazione) e successivamente esposti all'HBV: questa si manifesta o come un innalzamento delle concentrazioni anti-HBs oppure come un'infezione clinicamente benigna con solamente la sierconversione per anti-HBc in assenza dell'antigene di superficie. Le infezioni benigne rappresentano il 90% dei casi di infezione da HBV in soggetti vaccinati (*breakthrough infections*) [143]. In l'Italia, il sistema di sorveglianza SEIEVA ha stimato una frequenza di 5-6 eventi di *breakthrough infections* ogni anno nella popolazione vaccinata (16-17 milioni di soggetti), risultando quindi essere un fenomeno piuttosto raro [145].

L'assenza di anticorpi anti-core nei sieri analizzati mostra che nella popolazione in studio l'immunità acquisita deriva dalla vaccinazione, evidenziando come essa abbia azzerato la circolazione del virus dell'epatite B nella popolazione pediatrica e adolescente, fino ai 18 anni, della provincia di Firenze. Il dato, corroborato dall'assenza di notifiche per epatite B riportate nei registri di sorveglianza delle malattie infettive della AUSL TC per i soggetti arruolati nello studio, risulta essere in linea con l'andamento in diminuzione dei casi notificati negli ultimi 10 anni descritti per la regione Toscana ed in linea con i bassi valori di tassi grezzi medi annuali (ogni 100 000 abitanti), calcolati sui casi notificati dal 2013 al 2017 per i bambini e ragazzi di 1-14 anni (compresi fra 0,1-0,2/100 000) e per gli adolescenti e giovani adulti di 15-24 anni (0,6/100 000) [94].

4.4 Andamento dei livelli di immunità nella popolazione della Regione Toscana

Negli anni 2000 e 2009 sono state condotte in Toscana due indagini sieroepidemiologiche con l'obiettivo di valutare l'impatto della vaccinazione anti-epatite B a distanza di 10 anni (2000) [146] e di 19 anni (2009) [147] dall'implementazione della vaccinazione nei programmi di immunizzazione nazionale. Nello studio sieroepidemiologico del 2000 sono stati raccolti 681 sieri di soggetti di età compresa fra

1-50 anni presso alcune strutture del territorio fiorentino (pronto soccorso dell'ospedale pediatrico AOUMeyer e all'Ospedale dell'AOUCareggi e laboratori per analisi chimico-biologiche di routine) e nell'indagine del 2009 sono stati prelevati in totale 1071 campioni provenienti dalla popolazione generale di 1-50 anni residente in Toscana, di cui 149 da soggetti di età compresa fra 1-10 anni e 160 di età 11-20 anni. In entrambi gli studi i campioni di siero sono stati ottenuti come sieri residui derivanti dalle popolazioni afferenti ai centri prelievi delle due aziende ospedaliere, e sono stati recuperati in forma anonima, raccogliendo solo le informazioni anagrafiche relative al sesso e all'età.

Dall'indagine del 2000 era emerso che i livelli di sieroprotezione nei bambini di 1-4 anni ($\geq 10\text{mUI/ml}$) erano elevati con quasi la totalità dei soggetti protetti (97-100%) e che i titoli anti-HBs protettivi tendevano a diminuire nella classe di età 5-8 anni (79-93%) per il naturale abbassamento dei livelli anticorpali a distanza dall'ultima dose di vaccino ricevuta. Nella classe di età compresa fra 9 e 11 anni era stata riscontrata, invece, una marcata tendenza alla suscettibilità con solo il 17-50% dei soggetti protetti, ciò era dovuto al fatto che i bambini di questo gruppo appartenevano a coorti non ancora soggette alla vaccinazione obbligatoria. Di conseguenza, nelle classi di età più grandi, per cui la vaccinazione era raccomandata in adolescenza, la percentuale di soggetti con titoli anticorpali protettivi tendeva ad aumentare sia nei ragazzi di 12-14 anni (40-100%) che negli adolescenti di 15-20 anni (79-100%) (Figura 28).

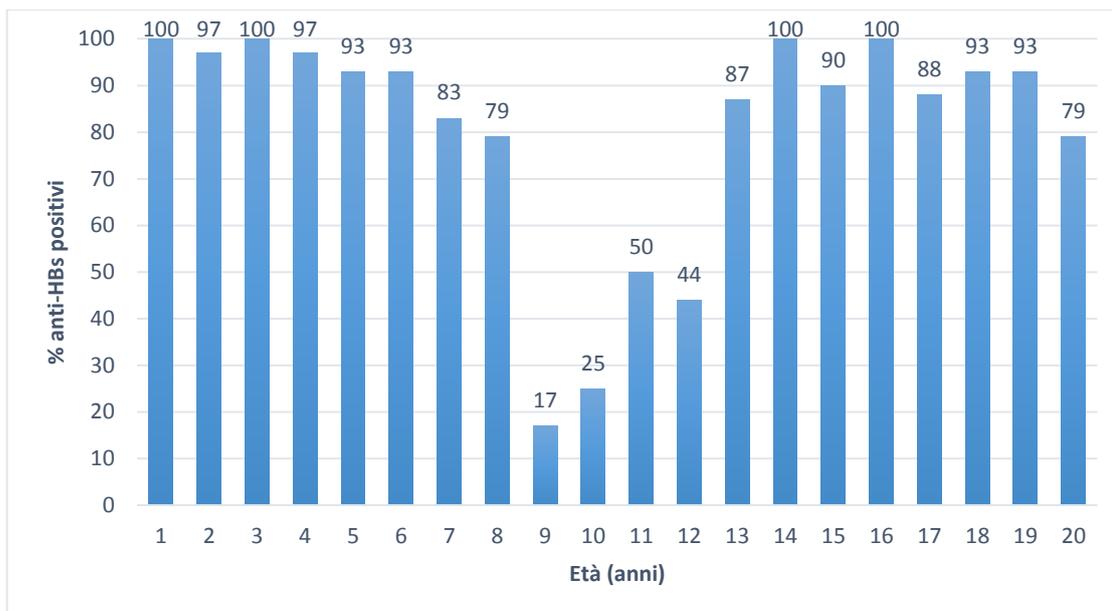


Figura 28: Prevalenza della reattività agli anti-HBs (≥ 10 mUI/ml) nei soggetti di età 1-20 anni arruolati durante l'indagine sieroepidemiologica del 2000 [146].

La valutazione della prevalenza degli anticorpi anti-HBc, analizzata suddividendo la popolazione in classi d'età decennali aveva evidenziato che l'infezione da HBV fosse estremamente rara nella popolazione di 1-20 anni in studio, con nessun caso di soggetti positivi nella classe di età 1-10 anni e un solo campione reattivo nel gruppo di 11-20 anni; infine nessun campione appartenente ai gruppi di età per cui la vaccinazione era obbligatoria era risultato positivo al test per la ricerca dell'antigene di superficie. Dallo studio era quindi emerso che i primi dieci anni di introduzione della vaccinazione anti-epatite B avevano avuto un forte impatto epidemiologico sulla malattia, con una potenziale assenza di casi acuti di epatite B nei soggetti appartenenti alle coorti di vaccinazione obbligatoria che avevano completato il ciclo di immunizzazione di base [146].

L'indagine sierologica del 2009 aveva confermato un'alta prevalenza di soggetti immuni verso l'infezione da HBV nella popolazione di età compresa fra 1 e 30 anni, soprattutto grazie all'implementazione della vaccinazione universale nei nuovi nati e negli adolescenti. Considerando solo le prime due classi di età in studio, dalla valutazione dei titoli anticorpali anti-HBs risultava che la maggior parte dei soggetti di età compresa fra 1-10 anni e 11-20 anni (entrambe coorti di soggetti ritenuti vaccinati o alla nascita o durante il 12° anno di età) aveva concentrazioni maggiori o uguali a 10 mUI/ml (rispettivamente: 59,1% e 58,1%). L'analisi sulla prevalenza degli anticorpi *core* aveva

mostrato una percentuale di positività all'anti-HBc pari al 4,1% nei bambini di 1-10 anni di età e del 5,0% nei ragazzi di 11-20 anni di età; in conclusione nessun campione della classe di età 1-10 anni presentava l'antigene di superficie e solo un soggetto del gruppo di età 11-20 anni risultava positivo all'HBsAg. Si evidenziava quindi, venti anni dopo l'introduzione della vaccinazione anti-epatite B, che la generazione dei bambini e dei giovani adulti (fino ai 30 anni di età) era ampiamente immune all'infezione da HBV e come la vaccinazione avesse impattato sia sull'incidenza dell'infezione acuta che sulla prevalenza dei *markers* sierologici specifici dell'epatite B nella popolazione generale, facendo pertanto ipotizzare l'eliminazione dell'epatite B dall'Italia come un obiettivo possibile da raggiungere [147].

Dal confronto dei risultati ottenuti nelle tre indagini sieroepidemiologiche (2000, 2009 e 2017-2018) condotte sul territorio toscano si può osservare una certa variabilità nelle frequenze dei soggetti con anticorpi protettivi verso l'infezione da HBV: dal 2000 al 2009 si nota una diminuzione delle percentuali di positività per anti-HBs in entrambe le classi di età. Questa differenza può essere dovuta alla sostituzione del vaccino anti-epatite B monovalente (usato fino al 2003) con quello esavalente DTPa-HBV-IPV-Hib introdotto a partire dal 2001 [146]. Infatti, pur essendo confermata una protezione a lungo termine della componente anti-epatite B del vaccino DTPa-HBV-IPV-Hib paragonabile a quella del monovalente, numerosi studi hanno dimostrato una minore immunogenicità del vaccino esavalente rispetto al monovalente [148-152].

Nella presente indagine sierologica condotta sui sieri raccolti nel 2017-2018 la percentuale dei soggetti anti-HBs positivi con titolo ≥ 10 mUI/ml di età compresa fra 1-10 anni si avvicina a quella relativa allo studio del 2000 (rispettivamente: 71,7% e 78,4%), mentre per la fascia d'età 11-18 anni la frequenza dei soggetti positivi risulta essere inferiore (40,9%) rispetto ai due studi precedenti (2000: 82,4%; 2009: 58,1%). Questo può essere spiegato considerando che la popolazione adolescente arruolata nel 2017-2018 è stata di norma vaccinata nel primo anno di vita, e a distanza di molti anni dall'ultima dose ricevuta (fino a 17 anni per il soggetto più grande arruolato) i livelli anticorpali anti-HBs tendono ad essere più bassi in ragione della maggiore distanza temporale dall'immunizzazione attiva. Nei due studi precedenti, invece, tutti i soggetti di età ≥ 12 anni arruolati nel 2000 e i soggetti di 19-20 anni dello studio del 2009 erano

stati oggetto di vaccinazione obbligatoria a dodici anni; ricevendo quindi più recentemente l'ultima dose di vaccino anti-epatite B, per questi era maggiore la probabilità di misurare titoli anticorpali ≥ 10 mUI/ml. Ciò si è riflesso nella stima di frequenze più elevate di soggetti positivi nella classe di età 11-20 anni (Tabella 17).

Infine si nota come nel tempo è andata a diminuire la percentuale di soggetti positivi all'anticorpo *core* e all'antigene di superficie, evidenziando l'assenza sia degli anticorpi anti-HBc che dell'HBsAg nei campioni della popolazione arruolata nel presente studio.

Tabella 17: Riepilogo della prevalenza dei titoli anticorpali anti-HBs (≥ 10 mUI/ml) e anti-HBc e della prevalenza dell'HBsAg nei soggetti arruolati nelle indagini sieroepidemiologiche condotte in Toscana nel 2000, 2009 e 2017-2018.

	Anti-HBs ≥ 10 mUI/ml (%)		Anti-HBc (%)		HBsAg (%)	
	1-10 anni	11-20 anni	1-10 anni	11-20 anni	1-10 anni	11-20 anni *
Indagine del 2000°	78,4	82,4	0	0,9	0	0
Indagine del 2009	59,1	58,1	4,1	5,0	0	0,6
Indagine del 2017-2018	71,7	40,9	0	0	0	0

NOTE:

*: classe 11-18 anni per l'indagine del 2017-2018.

°: Percentuali anti-HBs calcolate come media delle frequenze dei soggetti di 1-10 anni e dei soggetti 11-20 anni.

Sebbene il confronto tra i diversi studi condotti in tre diversi momenti possa presentare dei limiti riguardo alla differente numerosità delle classi di età e alla residenza dei soggetti arruolati che provenivano da tutto il territorio della Regione Toscana per gli studi del 2000 e del 2009, e dalla sola provincia di Firenze per lo studio del 2017-2018, è comunque confermato il notevole impatto della vaccinazione dopo 27 anni dalla sua introduzione in Italia. Il risultato più importante riguarda il fatto che la totalità dei soggetti arruolati nell'ultima indagine risulta immune grazie al programma di vaccinazione. Inoltre, l'assenza della circolazione del virus dell'epatite B nella popolazione pediatrica e adolescente della provincia di Firenze e il quasi azzeramento della diffusione dell'HBV nella popolazione residente in Toscana entro i 24 anni di età negli ultimi 4 anni (come confermato dall'ultimo rapporto sulle malattie infettive in Toscana pubblicato dall'Agenzia Regionale di Sanità) [94] possono rappresentare un primo *step* verso l'obiettivo di eliminazione dell'epatite B in Toscana e in Italia.

5. CONCLUSIONI

L'introduzione della vaccinazione anti-epatite B, a partire dal 1991, ha permesso un cambiamento del quadro epidemiologico dell'epatite B in Italia e in Toscana, con un netto *trend* in diminuzione dell'epatite B soprattutto nella popolazione più giovane, *target* del programma di vaccinazione: infatti, secondo le recenti stime pubblicate dal sistema di sorveglianza SEIEVA, non sono stati registrati nuovi casi di epatite B acuta nella popolazione pediatrica [91].

Il progetto di ricerca, articolato in diverse fasi esecutive, ha previsto un arruolamento attivo dei soggetti da poter includere nello studio, rappresentando un'importante occasione di *counseling* nella promozione delle attività di prevenzione presenti a livello regionale e nazionale, integrandosi alle numerose informazioni che la popolazione generale può raccogliere sui siti *web* istituzionali o ricevere dal proprio medico di medicina generale o dal pediatra di libera scelta.

Il questionario somministrato ai genitori dei minori arruolati nel presente studio, l'elemento di novità che ha permesso di raccogliere non solo informazioni anagrafiche, ma anche anamnestiche e vaccinali, è risultato essere un valido strumento per valutare il ricordo di avvenuta malattia o vaccinazione, con un buon grado di concordanza fra le risposte riportate per l'epatite B e quanto inserito nei registri di malattie infettive e di anagrafe vaccinale.

Dalla presente indagine sieroepidemiologica condotta sulla popolazione di 1-18 anni residente nella provincia di Firenze emerge che la maggior parte dei soggetti arruolati risulta avere titoli anticorpali protettivi, confermando il *trend* in aumento dei livelli di immunità nella popolazione pediatrica e dei giovani adulti negli ultimi 27 anni. Come riportato in letteratura, la persistenza della memoria immunologica in soggetti vaccinati con ciclo completo garantisce la protezione anche nel caso in cui i titoli anticorpali non siano rilevabili. Infatti come conferma l'Organizzazione Mondiale della Sanità la durata della protezione è di almeno 20 anni e possibilmente per tutta la vita, e ad oggi non ci sono prove scientifiche che supportino la necessità di una dose *booster* del vaccino anti-epatite B nei soggetti con un ciclo completo per cui non sono misurabili titoli anticorpali protettivi a distanza di anni dalla vaccinazione [51, 52, 57].

Infine l'assenza dell'anticorpo *core* in tutti i campioni analizzati indica il forte impatto del programma di vaccinazione grazie al quale è stato possibile ridurre sensibilmente, o azzerare in Toscana la circolazione del virus HBV nella popolazione pediatrica e adolescente negli ultimi decenni. Il presente studio ha fornito un contributo aggiornato sui dati sieropidemiologici finora disponibili in Toscana offrendo un'ulteriore conferma del grande successo ottenuto in Italia con il programma di vaccinazione nei confronti dell'epatite B.

Infine, ci si attende che questi risultati possano essere diffusi non solo in ambiente accademico, ma anche a livello di popolazione generale, al fine di aumentare la consapevolezza delle generazioni attuali e future di genitori, sugli strumenti di prevenzione disponibili in Sanità Pubblica per ridurre il rischio di cancro. In particolare, tra i 12 modi per la riduzione del rischio di cancro nel Codice Europeo viene inserita la raccomandazione che ciascun cittadino deve assicurare che i propri figli partecipino ai programmi di vaccinazione contro l'epatite B [153]. Il Codice Europeo contro il cancro interessa le azioni che i singoli cittadini possono adottare per contribuire alla prevenzione del cancro e per essere efficace richiede che queste azioni individuali siano sostenute dalle politiche e dagli interventi dei governi.

6. ALLEGATI

6.1 Allegato A

PROTOCOLLO DI ARRUOLAMENTO PER IL PERSONALE DEDICATO AL PROGETTO

Il personale dedicato al progetto, prima di procedere all'arruolamento dei soggetti per il presente studio, dovrà verificare le condizioni di inclusione del soggetto nello studio rispondendo alle domande riportate in tabella:

Qual è l'età del soggetto?		
Il soggetto è residente nella provincia di Firenze?	SI	NO
Il soggetto è affetto da immunodeficienze acquisite o congenite?	SI	NO
Il soggetto è sottoposto a terapia immunosoppressiva?	SI	NO
Il soggetto ha avuto una malattia infettiva acuta nelle due settimane precedenti?	SI	NO
Il soggetto ha subito trasfusioni di sangue negli ultimi 6 mesi?	SI	NO

Potranno essere ARRUOLATI solo i soggetti:

- Con età specifica a seconda del completamento delle fasce di età in cui è stratificata la popolazione per la presente raccolta sieri
- Residenti nella provincia di Firenze
- Non affetti da immunodeficienze acquisite o congenite
- Non sottoposti a terapia immunosoppressiva
- Che non hanno avuto una malattia infettiva acuta (fra quelle oggetto dello studio) nelle due settimane precedenti
- Che non hanno subito trasfusioni di sangue negli ultimi 6 mesi

A coloro che soddisfano i requisiti sopra elencati, il personale dedicato consegnerà:

- Modulo informativo e di consenso

Ai soggetti che forniranno il proprio consenso scritto, il personale dedicato somministrerà:

- Questionario

Il personale dedicato dovrà infine riportare nell'apposita tabella: ID (presente nella copia del consenso informato e nel questionario), nome, cognome, data di nascita del soggetto e nominativo del medico di medicina generale o pediatra di libera scelta.

**Gentile Sig.ra/Sig., le informazioni contenute
nel seguente foglio informativo sono
dettagliate e potrebbero risultare**

MOLTO COMPLESSE

**Le chiediamo di accettare la partecipazione
allo studio SOLO dopo avere letto con
attenzione questo foglio informativo ed avere
avuto un COLLOQUIO ESAURIENTE con il
medico che le dovrà dedicare il**

TEMPO NECESSARIO

**per comprendere completamente ciò che le
viene proposto**

Titolo dello studio: *“Valutazione della suscettibilità e dell’immunità verso le malattie infettive prevenibili mediante vaccino in relazione allo stato vaccinale: un’analisi prospettica”*

Codice Protocollo, versione e data: Rif. CEAVC BIO 16029

Versione 3, Marzo 2017

Promotore dello studio: *Dipartimento di Scienze della Salute (DSS), Università degli Studi di Firenze*

Sperimentatore Principale: *Prof. Paolo Bonanni, Dipartimento di Scienze della Salute (DSS) – Università degli Studi di Firenze, Viale Morgagni 48, 50134 Firenze.*

Tel: 055/2751094; e-mail: progetto.sierologia@dss.unifi.it

Gentile Signora / Egregio Signore,

Le è stato chiesto di partecipare ad uno studio osservazionale no profit e questo documento ha lo scopo di informarLa sulla natura dello studio, sul fine che esso si propone, su ciò che comporterà per Lei una tale partecipazione, sui suoi diritti e le sue responsabilità.

La prego di leggere attentamente queste informazioni scritte prima di prendere una decisione in merito ad una eventuale Sua partecipazione allo studio. Lei avrà a disposizione tutto il tempo necessario per decidere se partecipare o meno.

Potrà, inoltre, porre liberamente qualsiasi domanda di chiarimento e riproporre ogni quesito che non abbia ricevuto una risposta chiara ed esauriente.

Nel caso in cui, dopo aver letto e compreso tutte le informazioni ivi fornite, decidesse di voler partecipare allo studio, Le chiederò di voler firmare e personalmente datare il modulo di Consenso Informato allegato a questo documento.

Che cosa si propone lo studio

Il Laboratorio di sierologia del Dipartimento di Scienze della Salute partecipa ad uno studio sieroepidemiologico, che ha l’obiettivo di valutare la protezione verso alcune malattie infettive (come morbillo, rosolia, varicella, epatite A, epatite B, tetano) nella popolazione residente nella provincia di Firenze. Per poter fare questa valutazione è necessario effettuare un’indagine sierologica (analisi in laboratorio dei campioni di sangue raccolti) e raccogliere alcune informazioni personali attraverso un apposito questionario. Per “protezione verso alcune malattie infettive” si intende la presenza (immunità) o assenza (suscettibilità) degli specifici anticorpi verso le malattie infettive indagate, che si possono riscontrare nel campione di sangue di ciascun soggetto arruolato.

Quali sono le caratteristiche di questo studio

Si tratta di uno studio osservazionale prospettico, no profit, multicentrico, su campioni biologici (campioni di sangue). Il centro coordinatore è il Dipartimento di Scienze della Salute dell’Università degli Studi di Firenze, che ha sede in Viale Morgagni 48, Firenze. Si avvarrà della collaborazione di 6 centri prelievo dell’Azienda USL Toscana Centro, presenti nel territorio della provincia di Firenze, e del centro prelievi dell’Azienda Ospedaliero Universitaria Meyer. Lo studio avrà una durata di 2 anni e saranno arruolati circa 600 pazienti, di cui 157 in età pediatrica (1-18 anni).

Cosa comporta la sua partecipazione allo studio

Nel caso in cui Lei decidesse di partecipare allo studio, La informiamo che, dopo aver valutato la possibilità di poterla includere nella ricerca, lo studio prevede la compilazione di un questionario dedicato e la raccolta di un campione di sangue. La informiamo, inoltre, che la partecipazione alla ricerca non comporta per Lei alcun aggravio di spesa. La informiamo che dall'analisi del suo campione di sangue, potrebbe emergere un'eventuale positività per l'epatite B (infezione in atto): la modalità con cui sarà avvisato di tale eventualità è dettagliata nel paragrafo "Informazioni circa i risultati dello studio".

Indagini a cui sarà sottoposto/a durante lo studio

La Sua partecipazione allo studio avrà una durata di circa 10-15 minuti, durante i quali le verrà chiesto di compilare un questionario e le verrà prelevato un unico campione di sangue, in seguito non verrà più contattato per ulteriori indagini. La partecipazione allo studio non modificherà le sue abitudini di vita, anche in relazione ad eventuali ricoveri o controlli.

Quali sono i benefici che potrà ricevere partecipando allo studio

Benché ciò non possa essere a priori garantito, si dichiara che non si prevede che lo studio abbia una ricaduta immediata direttamente sul paziente, ma consentirà di trarre importanti informazioni a livello di comunità per inquadrare eventuali nuovi piani di prevenzione delle malattie.

Quali sono i rischi derivanti dalla partecipazione allo studio

Non sono previsti rischi derivanti dalla partecipazione allo studio, se non quelli associati al normale prelievo ematico a cui si sarebbe comunque sottoposto per i propri accertamenti diagnostici. Per lo studio non è prevista una copertura assicurativa.

Cosa succede se decide di non partecipare allo studio

La partecipazione allo studio è del tutto volontaria: Lei è libero/a di non partecipare allo studio oppure, se decide di partecipare, avrà il diritto di ritirarsi dallo studio in qualsiasi momento e senza l'obbligo di fornire spiegazioni, dandone tuttavia comunicazione al medico responsabile dello studio, il Prof. Paolo Bonanni (Dipartimento di Scienze della Salute, DSS – Università degli Studi di Firenze, Viale Morgagni 48, Firenze. Tel: 055/2751094; e-mail: progetto.sierologia@dss.unifi.it).

Anche il Medico Responsabile dello Studio potrà decidere di interrompere la Sua partecipazione allo studio qualora le condizioni che consentono la Sua partecipazione allo studio venissero meno.

In tal caso non saranno raccolti ulteriori dati che La riguardano e potrà chiedere la cancellazione di quelli già raccolti.

Consenso ad informare il proprio medico di medicina generale

Per la migliore tutela della Sua salute, Le verrà chiesto di informare il Suo medico di medicina generale in merito allo studio al quale accetta di partecipare, mediante consegna della specifica lettera informativa.

Informazioni circa i risultati dello studio

Se Lei lo richiederà, alla fine dello studio potranno esserLe comunicati i risultati generali dello studio ed in particolare quelli che La riguardano, ricevendo informazioni qualitative circa il suo stato immunitario nei confronti delle principali malattie esantematiche. Verrà contattato dallo Sperimentatore Principale solo se l'analisi sul suo campione di sangue darà esito positivo ad infezione in atto da epatite B: in tal caso, verrà recapitata al suo indirizzo di residenza una lettera informativa.

INFORMAZIONI IN MERITO AL TRATTAMENTO DEI DATI PERSONALI: Titolari del trattamento e relative finalità

Il Professor Paolo Bonanni, che segue lo studio presso il Dipartimento di Scienze della Salute, dell'Università degli Studi di Firenze (Viale Morgagni 48, 50134 Firenze) è individuato quale responsabile del trattamento dei dati dello studio che Le è stato descritto, in accordo alle responsabilità previste dalle norme della buona pratica. Tratterà i Suoi dati personali, in particolare quelli sulla salute e, soltanto nella misura in cui sono indispensabili in relazione all'obiettivo dello studio, altri dati relativi alla Sua origine, allo stato anamnestico e vaccinale, esclusivamente in funzione della realizzazione dello studio.

Il trattamento dei dati personali relativi ad informazioni anagrafiche, stato anamnestico e vaccinale ed informazioni sierologiche è indispensabile allo svolgimento dello studio: il rifiuto di conferirli non Le consentirà di parteciparvi.

Natura dei dati

Nel corso dello studio verranno trattate le seguenti tipologie di dati:

- Anagrafici
- Anamnestici e vaccinali
- Sierologici: livello di anticorpi nel sangue

Il medico responsabile dello studio e i collaboratori individuati che La seguiranno nello studio, La identificheranno con un codice per mantenere l'anonimato e la riservatezza dei suoi dati anagrafici. I dati che La riguardano saranno raccolti nel corso dello studio, registrati, elaborati e conservati, per sette anni dalla conclusione dello studio, unitamente a tale codice. Soltanto il medico e i soggetti autorizzati potranno collegare questo codice al Suo nominativo.

I dati, codificati come sopra indicato, saranno raccolti dal centro di ricerca presso il Dipartimento di Scienze della Salute, Università degli Studi di Firenze, Viale Morgagni 48, 50134 Firenze.

Modalità del trattamento

I dati, trattati mediante strumenti sia cartacei che elettronici (scheda raccolta dati cartacea ed elettronica), saranno diffusi solo in forma rigorosamente anonima ed aggregata, ad esempio attraverso pubblicazioni scientifiche, statistiche e convegni scientifici.

Trattamento dei campioni

In relazione al trattamento dei campioni biologici si precisa che:

- Il periodo di conservazione dei campioni biologici sarà di 7 anni,
- Il luogo ed il responsabile della conservazione dei campioni biologici si identifica con il Dipartimento di Scienze della Salute - Università degli Studi di Firenze; Viale Morgagni 48, 50134 Firenze nella figura del responsabile dello studio, il Prof. Paolo Bonanni.

Esercizio dei diritti

Potrà esercitare i diritti di cui all'art. 7 del Codice Privacy (es. accedere ai Suoi dati personali, integrarli, aggiornarli, rettificarli, opporsi al loro trattamento per motivi legittimi, ecc.) rivolgendosi direttamente al centro di sperimentazione: PAOLO BONANNI, Dipartimento di Scienze della Salute, Università degli studi di Firenze, Viale Morgagni 48, Firenze. Potrà interrompere in ogni momento e senza fornire alcuna giustificazione la Sua partecipazione allo studio. In tal caso, i campioni biologici a Lei correlati verranno distrutti. Non saranno inoltre raccolti ulteriori dati che La riguardano, ferma restando l'utilizzazione di quelli eventualmente già raccolti per determinare, senza alterarli, i risultati della ricerca.

Ulteriori informazioni

Non sono previsti costi aggiuntivi a Suo carico derivanti dalla partecipazione allo studio. Non riceverà alcun compenso economico per la partecipazione allo studio.

Il protocollo dello studio che Le è stato proposto è stato approvato dal Comitato Etico Area Vasta Centro in data 28/03/2017 e a seguito di emendamento in data 13/06/2017 e dal Comitato Etico Regionale per la Sperimentazione Clinica della Regione Toscana Sezione CEP in data 05/07/2017. Entrambi i comitati etici hanno tra le altre cose verificato la conformità dello studio alle Norme di Buona Pratica Clinica della Unione Europea ed ai principi etici espressi nelle Dichiarazione di Helsinki.

Lei potrà segnalare qualsiasi fatto ritenga opportuno evidenziare, relativamente alla ricerca che La riguarda, al Comitato Etico e/o alla Direzione Sanitaria di questa struttura.

Dott./Prof.	BONANNI	PAOLO
Telefono	055/2751094	
Email	progetto.sierologia@dss.unifi.it	

_____ / _____

Nome per esteso del medico
che ha consegnato l'informativa

Data

Ora

Firma

MODULO DI CONSENSO INFORMATO

Mod. C1.b

Versione 3, Marzo 2017

Vers_20160118

Titolo dello studio: "Valutazione della suscettibilità e dell'immunità verso le malattie infettive prevenibili mediante vaccino in relazione allo stato vaccinale: un'analisi prospettica"

Codice Protocollo, versione e data: Rif. CEAVC BIO 16029

Versione 3, Marzo 2017

Promotore dello studio: Dipartimento di Scienze della Salute (DSS), Università degli Studi di Firenze

Sperimentatore Principale: Prof. Paolo Bonanni, Dipartimento di Scienze della Salute (DSS) – Università degli Studi di Firenze, Viale Morgagni 48, 50134 Firenze.

Tel: 055/2751094; e-mail: progetto.sierologia@dss.unifi.it

Io sottoscritto/a _____ nato/a il
____/____/____ residente a _____ via/piazza
_____ Tel. _____ domicilio (se diverso dalla residenza)

DICHIARO

- di aver ricevuto dal Dottor _____ esaurienti spiegazioni in merito alla richiesta di partecipazione alla ricerca in oggetto, secondo quanto riportato nella scheda informativa, facente parte di questo consenso, della quale mi è stata consegnata una copia in data _____ alle ore _____ (indicare data e ora della consegna);
- che mi sono stati chiaramente spiegati e di aver compreso la natura, le finalità, le procedure, i benefici attesi, i rischi e gli inconvenienti possibili e le alternative dello studio;
- di aver avuto l'opportunità di porre domande chiarificatrici e di aver avuto risposte soddisfacenti;
- di aver avuto tutto il tempo necessario prima di decidere se partecipare o meno;
- di non aver avuto alcuna coercizione indebita nella richiesta del Consenso;
- che mi è stato chiaramente spiegato di poter decidere liberamente di non prendere parte allo studio o di uscirne in qualsiasi momento senza fornire giustificazione, e che tali decisioni non modificheranno in alcun modo i rapporti con i medici curanti e con la struttura presso la quale sono in cura;
- di essere consapevole dell'importanza (e della mia responsabilità) di informare il mio medico di medicina generale dello studio al quale accetto di partecipare;

DICHIARO pertanto di

volere **NON volere**

partecipare allo studio

volere **NON volere**

essere informato sui risultati di questa ricerca dal medico dello studio

volere **NON volere**

essere informato sui risultati della ricerca dal medico dello studio, anche in relazione alle notizie inattese che dovessero essere accidentalmente riscontrate con le indagini previste dallo studio

volere **NON volere**

Informare il medico di medicina generale della partecipazione allo studio

volere **NON volere**

Informare il medico di medicina generale in caso di esito positivo per l'epatite B del suo campione di sangue

volere **NON volere**

Limitare l'ambito di comunicazione e il trasferimento dei campioni biologici, nonché l'eventuale utilizzo di questi per ulteriori scopi

volere **NON volere**

Acconsentire all'eventualità che i campioni biologici siano conservati ed utilizzati per altri scopi di ricerca scientifica e statistica (ampliamento della sieroteca, ulteriori indagini sierologiche) per i quali sarà richiesto ulteriore consenso

_____ / / _____ _____
Nome per esteso del paziente Data Ora Firma
(adulto, minore maturo)

_____ / / _____ _____
Nome per esteso rappresentante legale Data Ora Firma

Sottoscrivendo questo modulo acconsento al trattamento dei miei dati personali e al loro trasferimento al di fuori dell'Unione europea (*da inserire se effettuato specificando gli estremi identificativi dei destinatari*) per gli scopi della ricerca nei limiti e con le modalità indicate nell'informativa fornitami con il presente documento.

_____ / / _____ _____
Nome per esteso del paziente Data Ora Firma
(adulto, minore maturo)

_____ / / _____ _____
Nome per esteso
rappresentante legale Data Ora Firma

Io sottoscritto Prof./Dr.

.....

.....

Cognome

Nome

Dichiaro che il Paziente ha firmato spontaneamente la sua partecipazione allo studio

Dichiaro inoltre di:

- aver fornito al Paziente esaurienti spiegazioni in merito alle finalità dello studio, alle procedure, ai possibili rischi e benefici e alle sue possibili alternative;
- aver verificato che il Paziente abbia sufficientemente compreso le informazioni fornitegli
- aver lasciato al Paziente il tempo necessario e la possibilità di fare domande in merito allo studio
- non aver esercitato alcuna coercizione od influenza indebita nella richiesta del Consenso

__/__/__

Nome per esteso del medico
che ha fornito le informazioni e
raccolto il consenso informato

Data

Ora

Firma

NOTA BENE

una copia del presente modulo, firmato e datato, allegato alle "Informazioni scritte per il Paziente" dovrà essere consegnata al Paziente stesso

ID:

MODULO DI CONSENSO INFORMATO

Versione 3, Marzo 2017

Titolo dello studio: “Valutazione della suscettibilità e dell’immunità verso le malattie infettive prevenibili mediante vaccino in relazione allo stato vaccinale: un’analisi prospettica”

Codice Protocollo, versione e data: Rif. CEAVC BIO 16029 Versione 3, Marzo 2017

Promotore dello studio: Dipartimento di Scienze della Salute (DSS), Università degli Studi di Firenze

Sperimentatore Principale: Prof. Paolo Bonanni, Dipartimento di Scienze della Salute (DSS) – Università degli Studi di Firenze, Viale Morgagni 48, 50134 Firenze.

Tel: 055/2751094; e-mail: progetto.sierologia@dss.unifi.it

Io sottoscritto/a _____ nato/a il
___/___/___ residente a _____ via/piazza
_____ Tel. _____ domicilio (se diverso dalla residenza)

DICHIARO

- di aver ricevuto dal Dottor _____ esaurienti spiegazioni in merito alla richiesta di partecipazione alla ricerca in oggetto, secondo quanto riportato nella scheda informativa, facente parte di questo consenso, della quale mi è stata consegnata una copia in data _____ alle ore _____ (indicare data e ora della consegna);
- che mi sono stati chiaramente spiegati e di aver compreso la natura, le finalità, le procedure, i benefici attesi, i rischi e gli inconvenienti possibili e le alternative dello studio;
- di aver avuto l’opportunità di porre domande chiarificatrici e di aver avuto risposte soddisfacenti;
- di aver avuto tutto il tempo necessario prima di decidere se partecipare o meno;
- di non aver avuto alcuna coercizione indebita nella richiesta del Consenso;
- che mi è stato chiaramente spiegato di poter decidere liberamente di non prendere parte allo studio o di uscirne in qualsiasi momento senza fornire giustificazione, e che tali decisioni non modificheranno in alcun modo i rapporti con i medici curanti e con la struttura presso la quale sono in cura;
- di essere consapevole dell’importanza (e della mia responsabilità) di informare il mio medico di medicina generale dello studio al quale accetto di partecipare;

DICHIARO pertanto di

volere **NON volere**

partecipare allo studio

volere **NON volere**

essere informato sui risultati di questa ricerca dal medico dello studio

volere **NON volere**

essere informato sui risultati della ricerca dal medico dello studio, anche in relazione alle notizie inattese che dovessero essere accidentalmente riscontrate con le indagini previste dallo studio

volere **NON volere**

Informare il medico di medicina generale della partecipazione allo studio

volere **NON volere**

Informare il medico di medicina generale in caso di esito positivo per l'epatite B del suo campione di sangue

volere **NON volere**

Limitare l'ambito di comunicazione e il trasferimento dei campioni biologici, nonché l'eventuale utilizzo di questi per ulteriori scopi

volere **NON volere**

Acconsentire all'eventualità che i campioni biologici siano conservati ed utilizzati per altri scopi di ricerca scientifica e statistica (ampliamento della sieroteca, ulteriori indagini sierologiche) per i quali sarà richiesto ulteriore consenso

_____ / / _____
Nome per esteso del paziente Data Ora Firma
(adulto, minore maturo)

_____ / / _____
Nome per esteso rappresentante legale Data Ora Firma

Sottoscrivendo questo modulo acconsento al trattamento dei miei dati personali e al loro trasferimento al di fuori dell'Unione europea (*da inserire se effettuato specificando gli estremi identificativi dei destinatari*) per gli scopi della ricerca nei limiti e con le modalità indicate nell'informativa fornitami con il presente documento.

_____ / / _____
Nome per esteso del paziente Data Ora Firma
(adulto, minore maturo)

_____ / / _____
Nome per esteso
rappresentante legale Data Ora Firma

Io sottoscritto Prof./Dr.

.....

.....

Cognome

Nome

Dichiaro che il Paziente ha firmato spontaneamente la sua partecipazione allo studio

Dichiaro inoltre di:

- aver fornito al Paziente esaurienti spiegazioni in merito alle finalità dello studio, alle procedure, ai possibili rischi e benefici e alle sue possibili alternative;
- aver verificato che il Paziente abbia sufficientemente compreso le informazioni fornitegli
- aver lasciato al Paziente il tempo necessario e la possibilità di fare domande in merito allo studio
- non aver esercitato alcuna coercizione od influenza indebita nella richiesta del Consenso

___/___/___

Nome per esteso del medico
che ha fornito le informazioni e
raccolto il consenso informato

Data

Ora

Firma

NOTA BENE

COPIA DA RITIRARE

**Gentile Sig.ra/Sig., le informazioni contenute
nel seguente foglio informativo sono
dettagliate e potrebbero risultare**

MOLTO COMPLESSE

**Le chiediamo di accettare la partecipazione
allo studio SOLO dopo avere letto con
attenzione questo foglio informativo ed avere
avuto un COLLOQUIO ESAURIENTE con il
medico che le dovrà dedicare il**

TEMPO NECESSARIO

**per comprendere completamente ciò che le
viene proposto**

Titolo dello studio: *“Valutazione della suscettibilità e dell’immunità verso le malattie infettive prevenibili mediante vaccino in relazione allo stato vaccinale: un’analisi prospettica”*

Codice Protocollo, versione e data: DSS-UNIFI

Versione 2, Marzo 2017

Promotore dello studio: *Dipartimento di Scienze della Salute (DSS), Università degli Studi di Firenze*

Sperimentatore Principale: *Prof. Paolo Bonanni, Dipartimento di Scienze della Salute (DSS) – Università degli Studi di Firenze, Viale Morgagni 48, 50134 Firenze.*

Tel: 055/2751094; e-mail: progetto.sierologia@dss.unifi.it

Gentili Genitori/Tutore,

Le informazioni contenute nella scheda informativa seguente sono dettagliate e potrebbero risultare molto complesse.

Le chiediamo di accettare la partecipazione allo studio solo dopo avere letto con attenzione questo foglio informativo ed avere avuto un colloquio esauriente con il medico sperimentatore che le dovrà dedicare il tempo necessario per comprendere completamente ciò che le viene proposto.

Vostro/a figlio/a potrebbe essere idoneo a partecipare ad uno studio osservazionale al quale Azienda USL Toscana Centro e Azienda Ospedaliero Universitaria Meyer hanno deciso di aderire. Questo studio, che ha come centro coordinatore il Dipartimento di Scienze della Salute dell’Università degli studi di Firenze, prevede la collaborazione di 6 centri prelievo presenti sul territorio della provincia di Firenze e del centro prelievi dell’Azienda Ospedaliero Universitaria Meyer.

Questo modulo fornisce informazioni importanti riguardanti gli scopi, i rischi e i possibili benefici di questo studio. Se qualche aspetto di questo modulo non vi risultasse chiaro, potrete porre domande ai medici sperimentatori coinvolti dello studio. Prendetevi tutto il tempo necessario. La partecipazione di vostro/a figlio/a è volontaria e potrete ritirarla in qualsiasi momento.

Una volta che avrete letto questo modulo, avrete ricevuto risposta alle eventuali domande, e qualora decideste di far prendere parte vostro/a figlio/a allo studio, vi sarà chiesto di firmare un modulo di consenso, di cui riceverete una copia cartacea

Che cosa si propone lo studio

Il Laboratorio di sierologia del Dipartimento di Scienze della Salute partecipa ad uno studio sieroepidemiologico che ha l’obiettivo di valutare la protezione verso alcune malattie infettive (morbillo, rosolia, varicella, epatite A, epatite B, tetano) nella popolazione residente nella provincia di Firenze. Per poter fare questa valutazione è necessario effettuare un’indagine sierologica (analisi in laboratorio dei campioni di sangue raccolti) e raccogliere alcune informazioni personali attraverso un apposito questionario. Vostro/a figlio/a è stato/a invitato/a a partecipare a questo studio. Per “protezione verso alcune malattie infettive” si intende la presenza (immunità) o assenza (suscettibilità) degli specifici anticorpi verso le malattie infettive indagate, che si possono riscontrare nel campione di sangue di ciascun soggetto arruolato.

Quali sono le caratteristiche di questo studio

Si tratta di uno studio osservazionale prospettico, no profit, multicentrico, su campioni biologici (campioni di sangue). Il centro coordinatore è il Dipartimento di Scienze della Salute dell'Università degli Studi di Firenze, che ha sede in Viale Morgagni 48, Firenze. Si avvarrà della collaborazione di 6 centri prelievo di Azienda USL Toscana centro, presenti nel territorio della provincia di Firenze e del centro prelievi dell'Azienda Ospedaliero Universitaria Meyer.

Lo studio avrà una durata di circa 2 anni e saranno arruolati complessivamente circa 600 pazienti, di cui 157 in età pediatrica (1-18 anni).

Cosa comporta la sua partecipazione allo studio

Se accettate che vostro/a figlio/a partecipi allo studio, La informiamo che, dopo aver valutato la possibilità di poterlo/a includere nella ricerca, lo studio prevede la compilazione di un questionario dedicato e la raccolta di un campione di sangue. La informiamo che dall'analisi del campione di sangue di vostro/a figlio/a, potrebbe emergere un'eventuale positività per l'epatite B (infezione in atto): la modalità con cui sarete avvisati di tale eventualità è dettagliata nel paragrafo "Informazioni circa i risultati dello studio".

La informiamo, inoltre, che la partecipazione alla ricerca non comporta per Lei alcun aggravio di spesa.

Indagini a previste dallo studio

La partecipazione di vostro/a figlio/a allo studio avrà una durata di circa 10-15 minuti, durante i quali verrà chiesto di compilare un questionario e verrà prelevato un unico campione di sangue. In seguito non verrà più contattato per ulteriori indagini. La partecipazione allo studio non modificherà le sue abitudini di vita, anche in relazione ad eventuali ricoveri o controlli.

benefici derivanti dalla partecipazione allo studio

Benché ciò non possa essere a priori garantito, si dichiara che non si prevede che lo studio abbia una ricaduta immediata direttamente sul paziente, ma consentirà di trarre importanti informazioni a livello di comunità per inquadrare eventuali nuovi piani di prevenzione delle malattie.

possibili i rischi derivanti dalla partecipazione allo studio

Non sono previsti rischi derivanti dalla partecipazione allo studio, se non quelli associati al normale prelievo ematico a cui vostro/a figlio/a si sarebbe comunque sottoposto per i propri accertamenti diagnostici.

Per lo studio non è prevista una copertura assicurativa.

Cosa succede se decidete di non prendere parte allo studio

La partecipazione allo studio è del tutto volontaria: se doveste decidere di non prendere parte allo studio, o in caso doveste cambiare idea in seguito, vostro/a figlio/a non subirà alcuna penalità o perdita di benefici ai quali avrebbe altrimenti diritto. Potrete ritirare l'adesione di vostro/a figlio/a allo studio in un qualsiasi momento dandone comunicazione al medico dello studio, Prof. Paolo Bonanni (*Dipartimento di Scienze della Salute, DSS – Università degli Studi di Firenze, Viale Morgagni 48, Firenze. Tel: 055/2751094; e-mail: progetto.sierologia@dss.unifi.it*),

senza fornire alcuna giustificazione. In tal caso non saranno raccolti ulteriori dati che lo/a riguardano e potrete chiedere la cancellazione di quelli già raccolti.

Informazione del medico di medicina generale/pediatra di libera scelta

Per la migliore tutela della salute di vostro figlio/a, vi verrà chiesto di informare il Suo medico di medicina generale/pediatra di libera scelta della sperimentazione alla quale accettate di far partecipare vostro/a figlio/a, mediante consegna della specifica lettera informativa.

Informazioni sui risultati dello studio

Se lo richiederete, alla fine dello studio potranno esservi comunicati i risultati generali dello studio ed in particolare quelli che riguardano vostro/a figlio/a, ricevendo informazioni qualitative circa il suo stato immunitario nei confronti delle principali malattie esantematiche. Verrete contattati dallo Sperimentatore Principale solo se l'analisi sul campione di sangue di vostro/a figlio/a darà risultati compatibili con un'infezione in atto per epatite B: in tal caso, verrà recapitata al vostro indirizzo di residenza una lettera informativa.

INFORMAZIONI IN MERITO AL TRATTAMENTO DEI DATI PERSONALI:

Titolari del trattamento e relative finalità

Il Professor Paolo Bonanni, che segue lo studio presso il Dipartimento di Scienze della Salute, dell'Università degli Studi di Firenze (Viale Morgagni 48, 50134 Firenze) è individuato quale responsabile del trattamento dei dati dello studio che Le è stato descritto, in accordo alle responsabilità previste dalle norme della buona pratica. Tratterà i dati personali di vostro/a figlio/a, in particolare quelli riguardanti lo stato immunitario di vostro/a figlio/a e, soltanto nella misura in cui sono indispensabili in relazione all'obiettivo dello studio, altri dati relativi all'origine, allo stato anamnestico e vaccinale, esclusivamente in funzione della realizzazione dello studio.

Il trattamento dei dati personali relativi ad informazioni anagrafiche, stato anamnestico e vaccinale ed informazioni sierologiche è indispensabile allo svolgimento dello studio: il rifiuto di conferirli non consentirà a vostro/a figlio/a di parteciparvi.

Natura dei dati

Nel corso dello studio verranno trattate le seguenti tipologie di dati:

- Anagrafici
- Anamnestici e vaccinali
- Sierologici: livelli di anticorpi nel sangue

Il medico responsabile dello studio e i collaboratori individuati che seguiranno vostro/a figlio/a nello studio, lo/a identificheranno con un codice per mantenere l'anonimato e la riservatezza dei suoi dati anagrafici. I dati che riguardano vostro/a figlio/a saranno raccolti nel corso dello studio, registrati, elaborati e conservati, per sette anni dalla conclusione dello studio, unitamente a tale codice. Soltanto il medico e i soggetti autorizzati potranno collegare questo codice al nominativo di vostro/a figlio/a.

I dati, codificati come sopra indicato, saranno raccolti dal centro di ricerca presso il Dipartimento di Scienze della Salute, Università degli Studi di Firenze, Viale Morgagni 48, 50134 Firenze.

Modalità del trattamento

I dati, trattati mediante strumenti sia cartacei che elettronici (scheda raccolta dati cartacea ed elettronica), saranno diffusi solo in forma rigorosamente anonima ed aggregata, ad esempio attraverso pubblicazioni scientifiche, statistiche e convegni scientifici.

Trattamento dei campioni

In relazione al trattamento dei campioni biologici si precisa che:

- Il periodo di conservazione dei campioni biologici sarà di 7 anni,
- Il luogo ed il responsabile della conservazione dei campioni biologici si identifica con il Dipartimento di Scienze della Salute - Università degli Studi di Firenze; Viale Morgagni 48, 50134 Firenze nella figura del responsabile dello studio il Prof. Paolo Bonanni

Esercizio dei diritti

Potrà esercitare i diritti di cui all'art. 7 del Codice Privacy (es. accedere ai Suoi dati personali, integrarli, aggiornarli, rettificarli, opporsi al loro trattamento per motivi legittimi, ecc.) rivolgendosi direttamente al centro di sperimentazione: PAOLO BONANNI, Dipartimento di Scienze della Salute, Università degli studi di Firenze, Viale Morgagni 48, Firenze. Potrà interrompere in ogni momento e senza fornire alcuna giustificazione la partecipazione di vostro/a figlio/a allo studio. In tal caso, i campioni biologici correlati a vostro/a figlio/a verranno distrutti. Non saranno inoltre raccolti ulteriori dati che riguardano vostro/a figlio/a, ferma restando l'utilizzazione di quelli eventualmente già raccolti per determinare, senza alterarli, i risultati della ricerca.

Ulteriori informazioni

Non sono previsti costi aggiuntivi a Suo carico derivanti dalla partecipazione allo studio. Vostro/a figlio/a Non riceverà alcun compenso economico per la partecipazione allo studio.

Il protocollo dello studio che Le è stato proposto è stato approvato dal Comitato Etico Area Vasta Centro in data 28/03/2017 e a seguito di emendamento in data 13/06/2017 e dal Comitato Etico Regionale per la Sperimentazione Clinica della Regione Toscana Sezione CEP in data 05/07/2017. Entrambi i comitati etici hanno tra le altre cose verificato la conformità dello studio alle Norme di Buona Pratica Clinica della Unione Europea ed ai principi etici espressi nelle Dichiarazione di Helsinki.

Potrete segnalare qualsiasi fatto ritenga opportuno evidenziare, relativamente alla ricerca che La riguarda, al Comitato Etico e/o alla Direzione Sanitaria di questa struttura.

Prof.	Bonanni	Paolo
Telefono	055/2751094	
Email	progetto.sierologia@dss.unifi.it	

_____ / / _____
Nome per esteso del medico Data Ora Firma
che ha consegnato l'informativa

Titolo dello studio: "Valutazione della suscettibilità e dell'immunità verso le malattie infettive prevenibili mediante vaccino in relazione allo stato vaccinale: un'analisi prospettica"

Codice Protocollo, versione e data: DSS-UNIFI

Versione 2, Marzo 2017

Promotore dello studio: Dipartimento di Scienze della Salute (DSS), Università degli Studi di Firenze

Sperimentatore Principale: Prof. Paolo Bonanni, Dipartimento di Scienze della Salute (DSS) – Università degli Studi di Firenze, Viale Morgagni 48, 50134 Firenze.

Tel: 055/2751094; e-mail: progetto.sierologia@dss.unifi.it

Io sottoscritta (madre/tutore) _____ nata il

___/___/___ residente a _____ via/piazza _____

Tel. _____ domicilio (se diverso dalla residenza) _____

Io sottoscritto (padre/tutore) _____ nato il

___/___/___ residente a _____ via/piazza _____

Tel. _____ domicilio (se diverso dalla residenza) _____

del minore _____ nato il ___/___/___

residente a _____ via/piazza _____

DICHIARO

- di aver ricevuto dal Dottor _____ esaurienti spiegazioni in merito alla richiesta di partecipazione alla ricerca in oggetto, secondo quanto riportato nella scheda informativa, facente parte di questo consenso, della quale mi è stata consegnata una copia in data _____ alle ore _____ (indicare data e ora della consegna);
- che mi sono stati chiaramente spiegati e di aver compreso la natura, le finalità, le procedure, i benefici attesi, i rischi e gli inconvenienti possibili e le alternative dello studio;
- di aver avuto l'opportunità di porre domande chiarificatrici e di aver avuto risposte soddisfacenti;
- di aver avuto tutto il tempo necessario prima di decidere se partecipare o meno;
- di non aver avuto alcuna coercizione indebita nella richiesta del Consenso;
- che mi è stato chiaramente spiegato di poter decidere liberamente di non prendere parte allo studio o di uscirne in qualsiasi momento senza fornire giustificazione, e che tali decisioni non modificheranno in alcun modo i rapporti con i medici curanti e con la struttura presso la quale sono in cura;
- di essere consapevole dell'importanza (e della mia responsabilità) di informare il mio medico di medicina generale/pediatra di libera scelta dello studio al quale accetto di partecipare;

DICHIARO pertanto di

volere **NON volere**

Che il minore partecipi allo studio

volere **NON volere**

essere informati sui risultati della ricerca dal medico dello studio, anche in relazione alle notizie inattese che dovessero essere accidentalmente riscontrate con le indagini previste dallo studio

volere **NON volere**

informare il pediatra di libera scelta/medico di medicina generale della partecipazione allo studio (è preferibile il suo coinvolgimento)

volere **NON volere**

Informare il pediatra di libera scelta/medico di medicina generale in caso di esito positivo per l'epatite B del campione di sangue di vostro/a figlio/a

volere **NON volere**

Limitare l'ambito di comunicazione e il trasferimento dei campioni biologici, nonché l'eventuale utilizzo di questi per ulteriori scopi

volere **NON volere**

Acconsentire all'eventualità che i campioni biologici siano conservati e utilizzati per altri scopi di ricerca scientifica e statistica (ampliamento della sieroteca, ulteriori indagini sierologiche) per i quali sarà richiesto ulteriore consenso

_____ /___/____ _____ _____
Nome per esteso del minore Data Ora Firma

_____ /___/____ _____ _____
Nome per esteso Data Ora Firma
del genitore/tutore legale

_____ /___/____ _____ _____
Nome per esteso Data Ora Firma
del genitore/tutore legale

Sottoscrivendo questo modulo acconsento al trattamento dei dati personali di mio figlio/a e al loro trasferimento al di fuori dell'Unione europea (*da inserire se effettuato specificando gli estremi identificativi dei destinatari*) per gli scopi della ricerca nei limiti e con le modalità indicate nell'informativa fornitami con il presente documento.

_____ / / _____
Nome per esteso del minore Data Ora Firma

_____ / / _____
Nome per esteso
del genitore/tutore legale Data Ora Firma

_____ / / _____
Nome per esteso
del genitore/tutore legale Data Ora Firma

Io sottoscritto Prof./Dr.

.....

.....

Cognome

Nome

Dichiaro che i genitori/tutori legali del Paziente hanno firmato spontaneamente la sua partecipazione allo studio

Dichiaro inoltre di:

- aver fornito al Paziente esaurienti spiegazioni in merito alle finalità dello studio, alle procedure, ai possibili rischi e benefici e alle sue possibili alternative;
- aver verificato che i genitori/tutore legale del Paziente abbiano sufficientemente compreso le informazioni fornitegli
- aver lasciato ai genitori/tutore legale il tempo necessario e la possibilità di fare domande in merito allo studio
- non aver esercitato alcuna coercizione od influenza indebita nella richiesta del Consenso

Nome per esteso del medico
che ha fornito le informazioni e
raccolto il consenso informato

___/___/___

Data

Ora

Firma

NOTA BENE

una copia del presente modulo, firmato e datato, allegato alle "Informazioni scritte per il Paziente" dovrà essere consegnata al Paziente stesso

6.4 Allegato D

MODULO INFORMATIVO PER PAZIENTI DI ETA' COMPRESA TRA 7 E 13 ANNI²

Mod. C3.a

Versione 2, Marzo 2017

Vers_20160118

Titolo dello studio: "Valutazione della suscettibilità e dell'immunità verso le malattie infettive prevenibili mediante vaccino in relazione allo stato vaccinale: un'analisi prospettica"

Codice Protocollo, versione e data: DSS-UNIFI

Versione 2, Marzo 2017

Promotore dello studio: Dipartimento di Scienze della Salute (DSS), Università degli Studi di Firenze

Sperimentatore Principale: Prof. Paolo Bonanni, Dipartimento di Scienze della Salute (DSS) – Università degli Studi di Firenze, Viale Morgagni 48, 50134 Firenze.

Tel: 055/2751094; e-mail: progetto.sierologia@dss.unifi.it

Perché facciamo questo studio?

La ricerca medica mira a migliorare la conoscenza sulle malattie infettive, cioè quelle causate da piccoli germi.

Lo scopo di questo studio è capire quanto i bambini e le persone adulte sono protetti per alcune malattie infettive, come morbillo, rosolia o varicella per le quali potresti aver fatto il vaccino.



Chi partecipa con me?

Chiederemo a 157 bambini e ragazzi, da 1 ai 18 anni di partecipare a questo studio. Complessivamente saranno circa 600 le persone che ci aiuteranno in questa ricerca.

Che succede se partecipo?

Ti sarà prelevata una provetta di sangue in più, oltre a quelle che avresti dovuto fare oggi. Se deciderai di partecipare allo studio, saranno chieste anche altre informazioni sul tuo stato di salute, sulle malattie infettive che hai avuto e su quali vaccini hai già fatto. Tutte queste domande saranno scritte in un questionario che sarà da compilare prima del prelievo del sangue. Quando sarà raccolto il tuo campione di sangue, questo verrà trasportato in un laboratorio e sarà conservato in un congelatore particolare, poi un biologo farà le dovute analisi.



² Dai sette anni compiuti al compimento del 13° anno di età.

**Quanto dura lo studio?**

La tua partecipazione è richiesta per soli 10-15 minuti, poi non sarai più contattato da questo gruppo di ricerca.

Lo studio, invece, durerà 2 anni.

Cosa accadrà ai miei campioni e alle mie informazioni, una volta raccolte?

I tuoi dati e i campioni raccolti saranno elaborati e conservati in database per 7 anni: i ricercatori di questo studio sostituiranno il tuo nome e cognome con un codice numerico che renderà impossibile il tuo riconoscimento.

Quali sono i benefici?

Le informazioni raccolte in questo studio potrebbero portare a scoperte importanti per conoscere meglio la salute di bambini e adulti della provincia di Firenze.

Quali sono i rischi?

Il prelievo di sangue potrebbe provocare un po' di dolore, sanguinamento o un piccolo livido nel punto di inserimento della farfallina.

Devo fornire il mio consenso per partecipare allo studio?

Una volta che avrai letto questo modulo e avrai ricevuto risposta alle tue domande, ti sarà chiesto di decidere se desideri partecipare allo studio. Se vorrai partecipare, dovrai firmare questo modulo di cui ti sarà data una copia.

Se decidi di non partecipare allo studio, o in caso dovessi cambiare idea in seguito, non succederà niente, continuerai a ricevere le cure a te necessarie presso questo ospedale.

E se dovessi avere delle domande?

Se hai delle domande puoi farle al Professor PAOLO BONANNI o ai suoi collaboratori durante il colloquio e potrai anche chiamarlo al telefono al numero 055/2751094: ti ascolterà e ti spiegherà tutto quello che desideri.

Data _____ ora _____ di consegna

Firma del medico che ha consegnato l'informativa

DICHIARAZIONE DI ASSENSO PER PAZIENTI DI ETA'
COMPRESA TRA 7 E 13 ANNI³

ID:

COPIA DA RITIRARE

Mod. C3.b

Versione 2, Marzo 2017

Vers_20160118

Titolo dello studio: *“Valutazione della suscettibilità e dell’immunità verso le malattie infettive prevenibili mediante vaccino in relazione allo stato vaccinale: un’analisi prospettica”*

Codice Protocollo, versione e data: DSS-UNIFI

Versione 2, Marzo 2017

Promotore dello studio: *Dipartimento di Scienze della Salute (DSS), Università degli Studi di Firenze*

Sperimentatore Principale: *Prof. Paolo Bonanni, Dipartimento di Scienze della Salute (DSS) – Università degli Studi di Firenze, Viale Morgagni 48, 50134 Firenze.*

Tel: 055/2751094; e-mail: progetto.sierologia@dss.unifi.it

Il modulo informativo mi è stato consegnato il (data) _____ alle ore _____

Ho capito tutto quello che il medico mi ha spiegato.

Il Dottore ha ascoltato tutte le mie domande ed ha saputo rispondermi.

Se in futuro avrò bisogno di qualcos’altro i medici dello studio saranno a mia disposizione.

Data e ora

Scrivi il tuo nome in stampatello qui se desideri partecipare allo studio

Data/ora

Firma del paziente. Scrivi il tuo nome in stampatello
qui se desideri partecipare allo studio

Data/ora

Firma del medico che ha informato il paziente

³ Dai sette anni compiuti al compimento del 13° anno di età.

6.5 Allegato E

MODULO INFORMATIVO PER PAZIENTI DI ETÀ' COMPRESA TRA I 14 E I 18 ANNI⁴

Mod. C3.b

Versione 2, Marzo 2017

Vers_20160118

Titolo dello studio: *“Valutazione della suscettibilità e dell’immunità verso le malattie infettive prevenibili mediante vaccino in relazione allo stato vaccinale: un’analisi prospettica”*

Codice Protocollo, versione e data: DSS-UNIFI

Versione 2, Marzo 2017

Promotore dello studio: *Dipartimento di Scienze della Salute (DSS), Università degli Studi di Firenze*

Sperimentatore Principale: *Prof. Paolo Bonanni, Dipartimento di Scienze della Salute (DSS) – Università degli Studi di Firenze, Viale Morgagni 48, 50134 Firenze.*

Tel: 055/2751094; e-mail: progetto.sierologia@dss.unifi.it

Caro/a,

Potresti essere idoneo a partecipare ad uno studio al quale Azienda usl Toscana Centro e Azienda Universitario Ospedaliera Meyer hanno deciso di aderire. Questo studio ha come centro coordinatore il Dipartimento di Scienze della Salute dell’Università di Firenze e coinvolge 6 centri prelievo presenti nel territorio della provincia di Firenze ed il centro prelievo dell’Ospedale pediatrico Meyer.

Questo modulo fornisce informazioni riguardanti gli scopi, i rischi e i possibili benefici di questo studio. Se qualche aspetto di questo modulo non ti risultasse chiaro, puoi porre domande ai medici dello studio. Prenditi tutto il tempo necessario. Non sei obbligato a partecipare. Se accetti, potrai decidere di ritirare la tua partecipazione in qualsiasi momento.

Una volta che avrai letto questo modulo e avrai ricevuto risposta alle tue eventuali domande, ti sarà chiesto di decidere se desideri partecipare allo studio. Se vorrai partecipare, dovrai firmare il modulo di cui ti sarà data una copia.

Quale è lo scopo di questo studio?

L’obiettivo generale dello studio è di valutare l’immunità (quali e quante difese immunitarie sono presenti in una persona) e la suscettibilità verso alcune malattie infettive prevenibili da vaccino, (morbillo, rosolia, varicella, epatite A ed epatite B) in un campione di sieri raccolto nella popolazione residente nella provincia di Firenze. La presenza o l’assenza delle difese immunitarie sarà messa in relazione alla storia vaccinale o di pregressa malattia infettiva di ciascun soggetto coinvolto nello studio.

Sei stato/a invitato/a a partecipare a questo studio perché lo studio comprende tutte le fasce d’età della popolazione, anche quelle più giovani. Poiché presenti tutti i requisiti indispensabili affinché tu possa essere incluso nella casistica di questo studio, per il gruppo di ricerca è importante ricevere il tuo contributo.

⁴ Dai 14 anni compiuti al compimento del 18° anno di età.

Quante persone parteciperanno?

Prenderanno parte allo studio circa 600 persone sane, di età compresa fra 1-99 anni, che si recano presso i centri prelievo per un normale prelievo di sangue. I soggetti minori (1-18 anni) saranno 157.

Cosa comporta la partecipazione allo studio?

Nel caso tu decida di partecipare allo studio, questa ricerca prevede l'attuazione dei seguenti trattamenti:

- Compilazione di un questionario dedicato
- Prelievo di un campione ematico

Inoltre, ti informiamo che dall'analisi del tuo campione di sangue, potrebbe emergere un'eventuale positività per l'epatite B (infezione in atto). La modalità con cui sarai avvertito è dettagliata successivamente nel paragrafo "Informazioni sui risultati dello studio".

Quanto durerà lo studio?

Se accetti di prendere parte allo studio, la tua partecipazione durerà per circa 10-15 minuti, poi non verrai più contattato. Lo studio ha una durata totale di 2 anni.

A quali indagini sarò sottoposto durante lo studio?

Ti sarà chiesto una provetta di sangue in più oltre a quelle che erano previste per il tuo normale prelievo ematico. La provetta sarà trasportata in laboratorio e conservata a -20°C finché non verranno condotte le analisi sierologiche.

Sono previsti benefici derivanti dalla mia partecipazione allo studio?

Benché ciò non possa essere a priori garantito, non si prevede che lo studio abbia una ricaduta immediata direttamente sul tuo stato di salute, ma consentirà di trarre importanti informazioni sullo stato immunitario della popolazione generale. Riguardo ai possibili benefici diretti che potrai trarre dalla tua partecipazione allo studio, se richiederai di essere informato sui tuoi risultati, potrai conoscere il tuo livello di protezione verso le malattie infettive indagate nel presente studio (vedi paragrafo "Informazioni sui risultati dello studio"). Inoltre, le informazioni che ricaveremo potranno essere utili per suggerire strategie di vaccinazione da inserire nei futuri nuovi programmi di prevenzione a livello regionale o nazionale.

Quali sono i rischi dello studio?

Non sono previsti rischi derivanti dalla partecipazione allo studio, se non quelli associati al normale prelievo ematico a cui ti saresti comunque sottoposto per i tuoi accertamenti medici.

Che cosa succede se decido di non prendere parte allo studio o di ritirarmi dallo studio?

La tua partecipazione allo studio è volontaria.

Se decidi di non partecipare, o in caso dovessi cambiare idea in seguito, non subirai alcuna penalità o perdita di benefici ai quali avresti altrimenti diritto. Le tue cure mediche attuali e future presso l'Ospedale Pediatrico Meyer non saranno compromesse dalla tua decisione ed i medici continueranno a seguirti con la dovuta attenzione.

Puoi ritirare la tua adesione allo studio in qualsiasi momento, comunicandolo al medico dello studio, il Prof. Paolo Bonanni (Dipartimento di Scienze della Salute, DSS – Università degli Studi di Firenze, Viale Morgagni 48, Firenze. Tel: 055/2751094; e-mail:

**DICHIARAZIONE DI ASSENSO PER PAZIENTI DI ETA' COMPRESA
TRA I 14 ANNI E IL COMPIIMENTO DEI 18 ANNI ⁵**

ID:

COPIA DA RITIRARE
Versione 2, Marzo 2017

Mod. C4.b
Vers_20160118

Titolo dello studio: *“Valutazione della suscettibilità e dell’immunità verso le malattie infettive prevenibili mediante vaccino in relazione allo stato vaccinale: un’analisi prospettica”*

Codice Protocollo, versione e data: DSS-UNIFI Versione 2, Marzo 2017

Promotore dello studio: *Dipartimento di Scienze della Salute (DSS), Università degli Studi di Firenze*

Sperimentatore Principale: *Prof. Paolo Bonanni, Dipartimento di Scienze della Salute (DSS) – Università degli Studi di Firenze, Viale Morgagni 48, 50134 Firenze.*

Tel: 055/2751094; e-mail: progetto.sierologia@dss.unifi.it

Io sottoscritto (nome e cognome) _____

dichiaro di aver ricevuto dal Dottor _____ esaurienti spiegazioni

in merito alla richiesta di partecipazione allo studio in oggetto, secondo quanto riportato nel modulo informativo allegato, della quale mi è stata consegnata una copia in data

_____ alle ore _____

Dichiaro che mi sono stati chiaramente spiegati la natura, lo scopo, i benefici attesi, i rischi e gli inconvenienti possibili dello studio.

Dichiaro di aver potuto fare tutte le domande che ho ritenuto necessarie e di aver ricevuto risposte soddisfacenti, come pure di aver avuto la possibilità di informarmi in merito ai particolari dello studio con persona di mia fiducia.

Accetto dunque liberamente di partecipare alla ricerca, avendo compreso completamente il significato della richiesta e i rischi e benefici che possono derivare da questa partecipazione.

Acconsento al trattamento dei miei dati personali e al loro trasferimento al di fuori dell'Unione europea (se applicabile) per gli scopi della ricerca nei limiti e con le modalità indicate nell'informativa fornitami con il presente documento.

Acconsento all’eventualità che i campioni biologici siano conservati ed utilizzati per altri scopi di ricerca scientifica e statistica (ampliamento sieroteca, ulteriori indagini sierologiche) per le quali sarà richiesto ulteriore consenso.

⁵ Dai 14 anni compiuti al compimento del 18° anno di età.

Desidero che mi siano comunicati i risultati dello studio.

__/__/____ _____ _____
Data Ora Firma del paziente

__/__/____ _____ _____
Data Ora Firma del medico che ha informato il paziente e registrato il suo consenso

6.6 Allegato F

LETTERA INFORMATIVA AL MEDICO DI MEDICINA GENERALE E/O AL PEDIATRA DI LIBERA SCELTA

Mod. C6

Versione 2, Marzo 2017

Vers_20160118

Titolo dello studio: *“Valutazione della suscettibilità e dell’immunità verso le malattie infettive prevenibili mediante vaccino in relazione allo stato vaccinale: un’analisi prospettica”*

Codice Protocollo, versione e data: DSS-UNIFI

Versione 2, Marzo 2017

Promotore dello studio: Dipartimento di Scienze della Salute (DSS), Università degli Studi di Firenze

Sperimentatore Principale: Prof. Paolo Bonanni, Dipartimento di Scienze della Salute (DSS) – Università degli Studi di Firenze, Viale Morgagni 48, 50134 Firenze.

Tel: 055/2751094; e-mail: progetto.sierologia@dss.unifi.it

Al Dott. _____

Medico curante del paziente _____

Gentile Collega,

con la presente desideriamo informarti che il/la tuo/a paziente, dopo aver fornito per iscritto il suo consenso *oppure* tramite i suoi rappresentanti legali (Genitori/tutore legale _____), è stato/a inserito/a in un protocollo di studio dal titolo *“Valutazione della suscettibilità e dell’immunità verso le malattie infettive prevenibili mediante vaccino in relazione allo stato vaccinale: un’analisi prospettica”* che si svolgerà presso il Dipartimento di Scienze della Salute (DSS), Università degli Studi di Firenze.

Il Laboratorio di sierologia del Dipartimento di Scienze della Salute partecipa ad uno studio sieroepidemiologico, che ha l’obiettivo di valutare la protezione verso alcune malattie infettive (morbillo, rosolia, varicella, epatite A, epatite B, tetano) nella popolazione residente nella provincia di Firenze. Per poter fare questa valutazione è necessario effettuare un’indagine sierologica (analisi in laboratorio dei campioni di sangue raccolti) e raccogliere alcune informazioni personali (anagrafiche, anamnestiche e vaccinali) attraverso un apposito questionario. Si tratta di uno studio osservazionale prospettico, non profit, multicentrico, su campioni biologici (campioni di sangue). Il centro coordinatore è il Dipartimento di Scienze della Salute dell’Università degli Studi di Firenze, che ha sede in Viale Morgagni 48, Firenze. Si avvarrà della collaborazione di 6 centri prelievo di Azienda USL Toscana Centro e del centro prelievi dell’Azienda Ospedaliero Universitaria Meyer.

Lo studio si svolgerà nel modo seguente:

Ai soggetti arruolati è stato chiesto di compilare un breve questionario per raccogliere informazioni anagrafiche, anamnestiche e vaccinali su alcune malattie infettive prevenibili mediante vaccinazione (morbillo, rosolia, varicella, epatite A, epatite B, tetano) ed è stato prelevato un campione di sangue. I campioni verranno conservati in laboratorio a -20°C finché non sarà conclusa la fase di arruolamento, successivamente verranno analizzati mediante il test immunoenzimatico ELISA. I dati sierologici saranno analizzati mediante analisi statistica descrittiva (Test del Chi-Quadro).

Lo studio, che è stato redatto e sarà condotto in conformità alle Norme di Buona Pratica Clinica e alla Dichiarazione di Helsinki, ha ricevuto il parere favorevole dal Comitato Etico Area Vasta Centro in data 28/03/2017 e a seguito di emendamento in data 13/06/2017 e dal Comitato Etico Regionale per la Sperimentazione Clinica della Regione Toscana Sezione CEP in data 05/07/2017.

Sarà nostra premura informarti di ogni eventuale problema che dovesse verificarsi e siamo disponibili ad ogni tuo contatto per comunicazioni, richieste e chiarimenti.

Ti ringraziamo fin d'ora per la tua collaborazione.

Cordiali saluti

Prof. Paolo Bonanni

Tel: 055/2751094;

e-mail: progetto.sierologia@dss.unifi.it

Data _____

6.7 Allegato G

SCHEMA RACCOLTA DATI (CRF)

DIPARTIMENTO DI SCIENZE DELLA SALUTE - UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI FIRENZE	
STUDIO OSSERVAZIONALE PROSPETTICO DI SIEROPREVALENZA	
<i>“Valutazione della suscettibilità e dell’immunità verso le malattie infettive prevenibili mediante vaccino in relazione allo stato vaccinale: un’analisi prospettica”</i>	
QUESTIONARIO	ID
<u>DATI ANAGRAFICI DEL SOGGETTO ARRUOLATO</u>	
ETÀ (anni):	SESSO: M F NAZIONALITÀ:
RESIDENZA:	ASL DI APPARTENENZA:
CF:	
<u>STATO DI IMMUNOCOMPETENZA DEL SOGGETTO ARRUOLATO</u>	
1. È affetto da immunodeficienze acquisite o congenite? <input type="checkbox"/> SÌ <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> NON SO	2. È sottoposto ad una terapia immunodepressiva? <input type="checkbox"/> SÌ <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> NON SO
<u>MALATTIE INFETTIVE PREGRESSE DEL SOGGETTO ARRUOLATO</u>	
MORBILLO	
3. Si è mai ammalato di morbillo? <input type="checkbox"/> SÌ <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> NON RICORDO/NON SO	5. È stato vaccinato per il morbillo? <input type="checkbox"/> SÌ <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> NON RICORDO/NON SO
4. Se sì, in quale anno si è ammalato di morbillo? <input type="checkbox"/> NON RICORDO/NON SO	6. Se sì, in quale anno è stato vaccinato per il morbillo? <input type="checkbox"/> NON RICORDO/NON SO

ROSOLIA

7. Si è mai ammalato di rosolia?

- SÌ
 NO
 NON RICORDO/NON SO

8. Se sì, in quale anno si è ammalato di rosolia?

-
 NON RICORDO/NON SO

9. È stato vaccinato per la rosolia?

- SÌ
 NO
 NON RICORDO/NON SO

10. Se sì, in quale anno è stato vaccinato per la rosolia?

-
 NON RICORDO/NON SO

11. Per soggetti di sesso femminile in età fertile (18-49 anni): ha mai effettuato il Rubeotest?

- SÌ
 NO
 NON RICORDO/NON SO

12. Conosce l'esito del Rubeotest?

- SÌ
 NO
 NON RICORDO/NON SO

13. Se sì (alla domanda 12), si ricorda il risultato?

- POSITIVO
 NEGATIVO
 DUBBIO
 NON RICORDO/NON SO

VARICELLA

14. Si è mai ammalato di varicella?

- SÌ
 NO
 NON RICORDO/NON SO

15. Se sì, in quale anno si è ammalato di varicella?

-
 NON RICORDO/NON SO

16. È stato vaccinato per la varicella?

- SÌ
 NO
 NON RICORDO/NON SO

17. Se sì, in quale anno è stato vaccinato per la varicella?

-
 NON RICORDO/NON SO

EPATITE B

18. Si è mai ammalato di epatite B?

- SÌ
 NO
 NON RICORDO/NON SO

19. È stato vaccinato per l'epatite B?

- SÌ
 NO
 NON RICORDO/NON SO

20. Se sì, in quale anno si è ammalato di epatite B?

-
 NON RICORDO/NON SO

21. Se sì, in quale anno è stato vaccinato per l'epatite B?

-
 NON RICORDO/NON SO

EPATITE A	
<p>22. Si è mai ammalato di epatite A?</p> <p><input type="checkbox"/> SI</p> <p><input type="checkbox"/> NO</p> <p><input type="checkbox"/> NON RICORDO/NON SO</p>	<p>24. È stato vaccinato per l'epatite A?</p> <p><input type="checkbox"/> SI</p> <p><input type="checkbox"/> NO</p> <p><input type="checkbox"/> NON RICORDO/NON SO</p>
<p>23. Se sì, in quale anno si è ammalato di epatite A?</p> <p>.....</p> <p><input type="checkbox"/> NON RICORDO/NON SO</p>	<p>25. Se sì, in quale anno è stato vaccinato per l'epatite A?</p> <p>.....</p> <p><input type="checkbox"/> NON RICORDO/NON SO</p>
TETANO	
<p>26. Ha effettuato il ciclo di base di 3 dosi in età pediatrica?</p> <p><input type="checkbox"/> SI</p> <p><input type="checkbox"/> NO</p> <p><input type="checkbox"/> NON RICORDO/NON SO</p>	<p>28. Quando ha effettuato l'ultima dose?</p> <p>.....</p> <p><input type="checkbox"/> NON RICORDO/NON SO</p>
<p>27. Ha effettuato i richiami vaccinali (a 5-6 anni, in adolescenza o ogni 10 anni in età adulta)?</p> <p><input type="checkbox"/> SI</p> <p><input type="checkbox"/> NO</p> <p><input type="checkbox"/> NON RICORDO/NON SO</p>	
ANAGRAFE VACCINALE E REGISTRI SORVEGLIANZA MALATTIE INFETTIVE	
<p>29. Autorizza la consultazione dei registri di vaccinazione e di sorveglianza delle malattie infettive?</p> <p><input type="checkbox"/> SI</p> <p><input type="checkbox"/> NO</p>	

Valutazione dell'immunità verso le malattie infettive prevenibili mediante vaccino

#1 COME CI PROTEGGIAMO DALLE MALATTIE INFETTIVE?

Le malattie infettive sono causate da piccoli germi.



È possibile difendersi dall'attacco di questi germi? Sì, ma dobbiamo possedere i giusti **ANTICORPI** per difenderci da loro senza ammalarsi.

Grazie alle **vaccinazioni** possiamo proteggerci da molte malattie infettive. I **vaccini**, infatti, ci aiutano a formare le giuste difese **prima** di incontrare i germi.

In questo modo non ci ammaliamo!



#2 COSASI PROPONE LO STUDIO?

È importante conoscere se siamo protetti verso le malattie infettive, grazie alle vaccinazioni.



Il Dipartimento di Scienze della Salute e il Meyer collaborano in uno studio che ha lo scopo di capire se i bambini (e gli adulti) sono protetti per alcune malattie (morbillo, rosolia, varicella, tetano, epatiti virali)...

Per raggiungere questo obiettivo:



Saranno raccolte delle informazioni mediante la compilazione di un **questionario**



Saranno effettuate da personale esperto delle analisi sui **campioni di sangue** raccolti

#3 QUALI SONO LE FASI DELLO STUDIO?

FASE 1:
Approvazione dello studio da parte dei Comitati Etici



FASE 2:
ARRUOLAMENTO

Distribuzione del **consenso informato**

Adesione allo studio

DOVE:
Centro Prelievi di AOU Meyer
CHI:
157 bambini e ragazzi di età compresa fra 1-18 anni

Raccolta di un **campione di sangue**

Compilazione del **questionario**

Termina qui il tuo diretto coinvolgimento allo studio

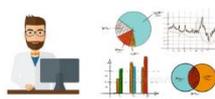
FASE 3:
Nel laboratorio del Dipartimento di Scienze della Salute i ricercatori continueranno lo studio effettuando:

Analisi sui **campioni di sangue**



Per ricercare gli anticorpi delle malattie indagate: morbillo, rosolia, varicella, epatite A, epatite B e tetano.

Inserimento in database dei **dati raccolti nel questionario**



Per avere informazioni anagrafiche, sulle malattie infettive avute e sulle vaccinazioni fatte.

#4 COSA CI ASPETTIAMO DALLLO STUDIO?

Grazie a questo studio si potrà **descrivere l'attuale situazione dello stato immunitario della popolazione fiorentina**, valutando i livelli di protezione verso le malattie infettive indagate.

Se vuoi saperne di più sul progetto, contattaci!

progetto.sierologia@dss.it



Dipartimento di Scienze della Salute
Università degli Studi di Firenze
Viale Morgagni 48, Firenze



Azienda Ospedaliero-Universitaria Meyer
Viale Pieraccini 24, Firenze

6.9 Allegato I

FALSO

I vaccini contengono quantità elevate di alluminio

I vaccini possono contenere alluminio in quantità che non causano effetti negativi sulla salute. Nei primi 6 mesi di vita, un bambino può ricevere 4mg di alluminio dai vaccini.

Nello stesso periodo il bambino ne riceverà: 10 mg dal latte materno, 40 mg se prende latte in formula, 120 mg se prende latte di soia.

FALSO

Le “malattie dell’infanzia” non sono gravi

Anche le “malattie dell’infanzia” possono causare delle **complicanze, disabilità permanenti** o addirittura il **decesso**. Qualche esempio:

- 11 Ottobre 2015: Bambina di 1 mese muore di pertosse a Bologna
- 19 Marzo 2016: Bambino di 3 anni muore di difterite in Belgio
- 28 Giugno 2017: Bambino non vaccinato viene ricoverato per tetano in Sardegna
- Aggiornamento morbillo al 7/11/2017: 4.794 casi e 4 decessi nel 2017 in Italia

FALSO

Le persone vaccinate contro l’influenza si ammalano lo stesso

Molti virus (rhinovirus, adenovirus...) possono provocare malattie simili all’influenza. Quindi, se dopo aver effettuato la vaccinazione antinfluenzale prendiamo una malattia simil-influenzale, ci sembra che il vaccino non abbia funzionato. Il **vaccino** rimane uno strumento **efficace** per **prevenire l’influenza stagionale**.

FALSO

Esistono degli esami che possono predire gli effetti collaterali dei vaccini

Non esiste alcun test in grado di predire eventuali reazioni avverse dovute a vaccini.

FALSO

I vaccini sono troppi per il nostro sistema immunitario

Il nostro sistema immunitario è in grado di riconoscere e rispondere ad un elevato numero di antigeni. Si stima che ogni bambino abbia la capacità teorica di rispondere a circa 10.000 vaccini contemporaneamente.

Facendo un confronto:

- Un **semplice graffio** sulla pelle ci espone ad alcuni **milioni di antigeni**
- Secondo il nuovo **Calendario Vaccinale**, gli **antigeni totali** ricevuti facendo tutte le vaccinazioni entro i primi 2 anni di vita, sono **solo 253**.

FALSO

I vaccini possono causare malattie autoimmuni o la sclerosi multipla

I risultati di molte ricerche hanno **escluso qualsiasi legame** fra vaccini ed insorgenza di malattie autoimmuni o sclerosi multipla.

FALSO

I vaccini aumentano il rischio di sviluppare allergie

È stato dimostrato che le vaccinazioni effettuate in età pediatrica non aumentano il rischio di sviluppare allergie ed asma.



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
FIRENZE

DSS
DIPARTIMENTO DI
SCIENZE DELLA SALUTE

sezione
**IGIENE, MEDICINA PREVENTIVA
E SANITA' PUBBLICA**

**I VACCINI
SFATIAMO ALCUNI
FALSI MITI**



Cosa sono i vaccini?

I vaccini sono farmaci in grado di **stimolare** le **difese immunitarie** a produrre una protezione specifica verso malattie infettive anche molto gravi. Simulando il primo contatto con un germe patogeno, **attivano** specifici meccanismi di difesa, **senza** però causare la **malattia** o le sue **complicanze**.



Il valore sociale della vaccinazione

L'**immunità di gregge** si ottiene quando, in una comunità almeno il 95% dei soggetti è vaccinato. In questo caso i germi hanno più difficoltà a diffondersi: quindi, anche quella piccola parte di persone non vaccinate è indirettamente protetta.

**VACCINANDOTI PROTEGGI TE STESSO
E PROTEGGI GLI ALTRI
Soprattutto chi non può vaccinarsi!**

Sicurezza dei vaccini

I vaccini sono i **farmaci più controllati e sicuri** disponibili in commercio. La sorveglianza **post-marketing**, inoltre, rileva eventuali segnalazioni di eventi avversi.

Rischi delle vaccinazioni

Il rapporto benefici/rischi pende **nettamente a favore dei benefici**. Tuttavia, come tutti i dispositivi medici, anche i vaccini possono comportare dei rischi. Gli **effetti collaterali gravi** (come shock anafilattico) sono **molto rari**. La **maggior parte** dei casi sono **reazioni lievi** (come dolore o rossore al sito di iniezione) che si risolvono spontaneamente.

Il rischio di **complicanze** dovuto alla **malattia naturale** è **più elevato** rispetto al rischio di effetti collaterali da **vaccino**

Rischi associati alla malattia	Rischi associati alla vaccinazione
<u>Morbillo</u> Polmonite: 1-6 casi su 100 Encefalite: 1-20 casi su 2.000 Morte: 1 caso su 1.000	<u>Vaccino MPR</u> Encefalite o reazione allergica severa: 1 caso su 1 milione
<u>Parotite</u> Encefalite: 1 caso su 300	
<u>Rosolia</u> Rosolia Congenita: 1 caso su 4, se contratta ad inizio gravidanza	

Vaccini e falsi miti

Negli ultimi anni si sono diffuse "storie" su possibili rischi correlati alle vaccinazioni, anche grazie ai **social media**. Questo ha determinato una sensibile perdita di fiducia nei confronti di efficacia e sicurezza dei vaccini.

Tutte queste "storie" non trovano fondamenti scientifici, sono dunque **FALSI MITI DA SFATARE**

FALSO
Le malattie infettive stavano scomparendo prima dell'introduzione dei vaccini

Pensiamo alla poliomielite. Questa malattia è sempre esistita: in Europa si sono verificate epidemie anche negli anni '50-'60 nonostante i miglioramenti igienico-sanitari. Solo dopo l'introduzione del vaccino anti-polio si è assistito alla sua scomparsa.

FALSO
I vaccini causano l'autismo

Dai numerosi studi scientifici **NON EMERGE ALCUN NESSO DI CAUSALITÀ** fra vaccini ed autismo. L'unico studio, pubblicato nel 1998, che riportava un legame fra vaccino MPR ed autismo, è stato confutato oltre ogni ragionevole dubbio e ritirato. Inoltre, l'autore del lavoro è stato radiato dall'Ordine Professionale dei Medici.

FALSO
I vaccini contengono sostanze tossiche

Nessuno studio ha mai dimostrato che gli additivi (adiuvanti e conservanti) alle dosi contenute nei vaccini siano tossici.

I vaccini **NON CONTENGONO MERCURIO** (Thiomersal), eliminato da tutti i vaccini dal 2002.

Per avere maggiori informazioni o approfondimenti sul tema delle vaccinazioni si consiglia di consultare il sito: <http://www.vaccinarsi.org/>

VaccinarSi
Informarsi sulle vaccinazioni

BIBLIOGRAFIA

1. WHO. The top 10 causes of death. Fact sheet, details. Ultimo aggiornamento 24 Maggio 2018. Disponibile on line: <http://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>
2. Plotkin SL and Plotkin SA. Chapter one. In: Plotkin and Orenstein. Vaccines 2008
3. Dawson A. Herd protection as a public good: vaccination and our obligation to other. In Dawson, A. - Verweij, M. Ethics, prevention and public health, Oxford: Clarendon Press, 2007, 160-17.
4. WHO. The global eradication of smallpox. Final report of the Global Commission for the certification of smallpox eradication, Geneve, December 1979. World Health Organization, Geneve 1980. Disponibile online: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/39253/1/a41438.pdf>
5. WHO Europe. Certification of Poliomyelitis Eradication. Fifteenth meeting of European Regional Certification Commission, Copenhagen, 19-21 June 2002. Disponibile online: http://www.euro.who.int/data/assets/pdf_file/0003/79374/E88105.pdf?ua=1
6. Abbas A K, Lichtman A H, Pillai S, 2015. Immunologia cellulare molecolare. 8° Edizione. Edizione Edra, Milano.
7. Assael B, 1996. Il favoloso innesto. Storia sociale della vaccinazione. Bari, Laterza.
8. Allen A, 2007. Vaccine. The controversial story of medicine's greatest lifesaver. New York, W.W. Norton & Co.
9. Kaufmann S, 2009. The new plagues: pandemic and poverty in a globalized world. Berlin, Paperback.
10. Mantovani A, 2016. Immunità e vaccini. Milano, Mondadori.
11. Ministero della Salute. Vaccinazioni: stato dell'arte, falsi miti e prospettive. Il ruolo chiave della prevenzione. Quaderni del Ministero della Salute. 2017; n. 27, marzo 2017. Disponibile online: http://www.quadernidellasalute.it/imgs/C_17_pubblicazioni_2586_allegato.pdf
12. WHO. Health Topics. Immunization. Disponibile online: <http://www.who.int/topics/immunization/en/>
13. Centers for Disease Control and Prevention. Epidemiology and Prevention of Vaccine-Preventable Diseases. Hamborsky J, Kroger A, Wolfe S, eds. 13th ed. Washington D.C. Public Health Foundation, 2015.
14. WHO, International travel and health. Poliomyelitis (Polio). Vaccines. Disponibile online: <http://www.who.int/ith/vaccines/polio/en/>
15. Rappuoli R. Reverse vaccinology, a genome-based approach to vaccine development. Vaccine. 2001 Mar 21;19(17-19):2688-91. Disponibile online: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0264410X00005545?via%3Dihub>
16. CDC, Ingredients of Vaccines – Fact Sheet. Disponibile online: <https://www.cdc.gov/vaccines/vac-gen/additives.htm>
17. WHO. Immunization, Vaccines and Biologicals. Decade of Vaccines – Global Vaccine Action Plan 2011-2020. Disponibile online: http://www.who.int/immunization/global_vaccine_action_plan/DoV_GVAP_2012_2020/en/
18. WHO. Global Vaccine Action Plan 2011-2020. 2013. Disponibile online: http://www.who.int/immunization/global_vaccine_action_plan/GVAP_doc_2011_2020/en/
19. WHO. MDG4: Reduce child mortality. (Aggiornamento: Maggio 2015). Disponibile online: http://www.who.int/topics/millennium_development_goals/child_mortality/en/

20. WHO. 2017 Assessment Report of the Global Vaccine Action Plan Strategic Advisory Group of Experts on Immunization. Geneva, 2017. Disponibile online: http://www.who.int/immunization/web_2017_sage_gvap_assessment_report_en.pdf
21. WHO, Regional Office for Europe. European Vaccine Action Plan 2015-2020. 2014. Disponibile online: http://www.euro.who.int/_data/assets/pdf_file/0007/255679/WHO_EVAP_UK_v30_WEBx.pdf?ua=1
22. Accordo Stato-Regioni del 29 luglio 2004 “Piano di Prevenzione Attiva 2004-2006”. Disponibile online: <http://www.trovanorme.salute.gov.it/renderNormsanPdf.spring?parte=1&serie=&anno=0&codLeg=23996>
23. Legge del 26 maggio 2004, n. 138 “Interventi urgenti per fronteggiare situazioni di pericolo per la salute pubblica”. G. U. n. 125 del 29 maggio 2004.
24. Intesa Stato Regioni del 23 marzo 2005 “Piano Nazionale della Prevenzione 2005-2007”. Disponibile online: http://www.ccmnetwork.it/documenti_Ccm/normativa/Intesa_23-3-2005.pdf
25. Intesa Stato-Regioni del 20 marzo 2008 “Proroga al 2008 del Piano Nazionale della Prevenzione 2005-2007 e modalità per l’elaborazione della proposta di Piano Nazionale della Prevenzione 2009-2011. Disponibile online: http://www.ccmnetwork.it/documenti_Ccm/PNP/workshop_9-7-08/Intesa_20-3-08_proroga_Pnp.pdf
26. Accordo Stato-Regioni del 25 marzo 2009 “Realizzazione degli obiettivi di carattere prioritario e di rilievo nazionale per l’anno 2009”. Disponibile online: http://www.ccm-network.it/documenti_Ccm/normativa/Accordo_Psn_25.3.09.pdf
27. Intesa Stato-Regioni del 29 aprile 2010 “Piano Nazionale per la Prevenzione per gli anni 2010-2012”. Disponibile online: http://www.statoregioni.it/Documenti/DOC_026549_63%20csr.pdf
28. Accordo Stato Regioni 7 febbraio 2013 “Proroga del Piano nazionale per la prevenzione per gli anni 2010-2012”. Disponibile online: <http://www.statoregioni.it/dettaglioDoc.asp?idprov=11685&iddoc=39740&tipodoc=2&CONF=>
29. Intesa Stato-Regioni del 13 novembre 2014 “Piano nazionale per la prevenzione per gli anni 2014-2018”. Disponibile online: <http://www.statoregioni.it/DettaglioDoc.asp?IDDoc=45549&IdProv=13529&tipodoc=2&CONF=>
30. Intesa Stato-Regioni del 19 Gennaio 2017 “Piano Nazionale Prevenzione Vaccinale 2017-2019”. Disponibile online: <http://www.statoregioni.it/dettaglioDoc.asp?idprov=18064&iddoc=56323&tipodoc=2>
31. Ministero della Salute. Piano Nazionale Prevenzione Vaccinale 2017-2019. 2017. Disponibile online: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pubblicazioni_2571_allegato.pdf
32. Ministero della Salute. Piano Nazionale Prevenzione Vaccinale (PNPV) 2012-2014. Disponibile online: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pubblicazioni_1721_allegato.pdf
33. Ministero della Salute. Piano Nazionale per l’eliminazione del morbillo e della rosolia congenita 2010-2015. Approvato con Intesa Stato-Regioni 23 Marzo 2011. Disponibile online: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pubblicazioni_1519_allegato.pdf
34. Decreto del Presidente del Consiglio dei Ministri del 12 Gennaio 2017. “Definizione dei livelli essenziali di assistenza”. Disponibile online: <http://www.gazzettaufficiale.it/eli/id/2017/03/18/17A02015/sg>
35. Ministero della Salute. Vaccinazioni dell’età pediatrica – Anno 2013. Coperture vaccinali per 100 abitanti), calcolate sui riepiloghi inviati dalle Regioni e PP.AA. (per singolo

- antigene). Disponibile online:
http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_tavole_20_allegati_iitemAllegati_0_fileAllegati_it_emFile_1_file.pdf
36. Ministero della Salute. Coperture vaccinali a 24 mesi per singolo antigene, anno 2015. Disponibile online:
http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_tavole_20_allegati_iitemAllegati_0_fileAllegati_it_emFile_3_file.pdf
 37. ISS. Morbillo&Rosolia News. Aggiornamento mensile. Rapporto N° 37 - Gennaio 2018. Disponibile online:
http://www.epicentro.iss.it/problemi/morbillo/bollettino/RM_News_2018_37%20def.pdf
 38. ISS. Morbillo&Rosolia News. Aggiornamento mensile. Rapporto N° 44 - Settembre 2018. Disponibile online:
http://www.epicentro.iss.it/problemi/morbillo/bollettino/RM_News_2018_44.pdf
 39. Decreto Legge n. 73. Disposizioni urgenti in materia di prevenzione vaccinale. In Gazzetta Ufficiale Serie Generale, n. 130 del 07/06/2017. Disponibile online:
<http://www.trovanorme.salute.gov.it/norme/dettaglioAtto?id=59548>
 40. Legge n. 119 del 31 luglio 2017. Conversione in legge, con modificazioni, del decreto-legge 7 giugno 2017, n. 73, recante disposizioni urgenti in materia di prevenzione vaccinale. In Gazzetta Ufficiale Serie Generale, n. 182 del 05/08/2017. Disponibile online:
<http://www.trovanorme.salute.gov.it/norme/dettaglioAtto?id=60201>
 41. Ministero della Salute. Progetto Mattoni SSN. Assistenza Sanitaria Collettiva. Contenuti informativi minimi per la rilevazione delle prestazioni di Vaccinazioni. Metadato per la rilevazione delle prestazioni. 2007. Disponibile online:
http://www.mattoni.salute.gov.it/mattoni/documenti/M15_ASC_Vaccinazioni.pdf
 42. D'Ancona F, Gianfredi V, Riccardo F, Iannazzo S. Immunisation Registries at regional level in Italy and the roadmap for a future Italian National Registry. Ann Ig. 2018 Mar-Apr;30(2):77-85. doi: 10.7416/ai.2018.2199.
 43. Gruppo di lavoro ICONA. ICONA: indagine nazionale sulla copertura vaccinale infantile. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 1998. (Rapporti ISTISAN 98/33).
 44. Gruppo di lavoro ICONA. ICONA 2003: indagine nazionale sulla copertura vaccinale infantile. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2003. (Rapporti ISTISAN 03/37).
 45. Gruppo di lavoro ICONA. ICONA 2008: indagine nazionale sulla copertura vaccinale infantile. Roma: Istituto Superiore di Sanità; 2009. (Rapporti ISTISAN 09/29).
 46. Decreto Ministeriale del 15 Dicembre 1990. Sistema informativo delle malattie infettive e diffuse. In Gazzetta Ufficiale Serie Generale n. 6 del 08/01/1991. Disponibile online:
<http://www.gazzettaufficiale.it/eli/id/1991/01/08/091A0055/sg;jsessionid=s5dQ9Pi20aWe1fpQDEkNVw.ntc-as2-guri2b>
 47. Decreto Ministeriale del 29 luglio 1998. Modificazione alla scheda di notifica di caso di tubercolosi e micobatteriosi non tubercolare allegata al decreto ministeriale del 15 dicembre 1990. In Gazzetta Ufficiale n. 200 del 28/08/1998. Disponibile online:
http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_normativa_1358_allegato.pdf
 48. Istituto Superiore di Sanità. Sistema Epidemiologico Integrato dell'Epatite Virale Acuta (SEIEVA). Ultimo aggiornamento 28/09/2017. Disponibile online:
<http://old.iss.it/seieva/>
 49. Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA). Rapporto Vaccini 2017 – Sorveglianza post-marketing in Italia. 2018. Disponibile online:
http://www.aifa.gov.it/sites/default/files/Rapporto_Vaccini_2017_vers_acc.pdf
 50. Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA). Rete Nazionale di Farmacovigilanza. Ultimo aggiornamento luglio 2018. Disponibile online:
<http://www.agenziafarmaco.gov.it/content/rete-nazionale-di-farmacovigilanza>

51. WHO. Hepatitis B. Ultimo aggiornamento 18/07/2018. Disponibile online: <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-b>
52. WHO. Immunization, Vaccines and Biologicals. Vaccines and diseases. Hepatitis B. Ultimo aggiornamento: 24/01/2018. Disponibile online: <http://www.who.int/immunization/diseases/hepatitisB/en/>
53. WHO. The immunological Basis for Immunization Series. Module 22: Hepatitis B. Dicembre 2012. Disponibile online: http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/77755/9789241504751_eng.pdf;jsessionid=5DABF4F765F39A175EE597DB8270ECEC?sequence=1
54. Moroni M, Esposito R, De Lalla F. Manuale di malattie infettive settima edizione. Milano, Masson, 2008
55. Pan CQ, Zou HB, Chen Y, Zhang X, Zhang H, Li J, Duan Z. Cesarean section reduces perinatal transmission of hepatitis B virus infection from hepatitis B surface antigen-positive women to their infants. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2013 Oct;11(10):1349-55.
56. Epicentro. Epatite virale. Informazioni generali. Ultimo aggiornamento 22/12/2016. Disponibile online: <http://www.epicentro.iss.it/problemi/epatite/epatite.asp#b>
57. Hepatitis B vaccines: WHO position paper – July 2017. *Wkly Epidemiol Rec.* 2017 Jul 7;92(27):369-92. Disponibile online: <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/255841/WER9227.pdf?sequence=1>
58. Fan H, Zhang H, Pascuzzi PE, Andrisani O. Hepatitis B virus X protein induces EpCAM expression via active DNA demethylation directed by RelA in complex with EZH2 and TET2. *Oncogene.* 2016 Feb 11;35(6):715-26.
59. Carosi G, Caporaso N, Gardini I, et al. Epatiti Summit 2010 - Un'emergenza sommersa: opinioni e strategie a confronto. 2010.
60. Van Damme P et al. Hepatitis B Vaccines, In *Vaccines 6th Edition.* Plotkin SA, Orenstein WA, Offit PA editors, Elsevier Sanders, 2017.
61. Chang JJ, Lewin SR. Immunopathogenesis of hepatitis B virus infection. *Immunol Cell Biol.* 2007 Jan;85(1):16-23.
62. European Centre for Disease Prevention and Control. Hepatitis B and C in the EU neighbourhood: prevalence, burden of disease and screening policies. Stockholm: ECDC; 2010. Disponibile online: https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/media/en/publications/Publications/TER_10_0914_Hep_B_C%20_EU_neighbourhood.pdf
63. WHO. Immunization, Vaccines and Biologicals. Ultimo aggiornamento: 10/07/2013. Disponibile online: http://www.who.int/immunization/topics/hepatitis_b/en/
64. Pichichero ME, Bernstein H, Blatter MM, Schuerman L, Chevart B, Holmes SJ; 085 Study Investigators. Immunogenicity and safety of a combination diphtheria, tetanus toxoid, acellular pertussis, hepatitis B, and inactivated poliovirus vaccine coadministered with a 7-valent pneumococcal conjugate vaccine and a Haemophilus influenzae type b conjugate vaccine. *J Pediatr.* 2007 Jul;151(1):43-9, 49.e1-2.
65. Heininger U; DTP-HBV-IPV-059 Study Group; DTP-HBV-IPV-096 Study Group, Sanger R, Jacquet JM, Schuerman L. Booster immunization with a hexavalent diphtheria, tetanus, acellular pertussis, hepatitis B, inactivated poliovirus vaccine and Haemophilus influenzae type b conjugate combination vaccine in the second year of life: safety, immunogenicity and persistence of antibody responses. *Vaccine.* 2007 Jan 22;25(6):1055-63.
66. Bavdekar SB, Maiya PP, Subba Rao SD, Datta SK, Bock HL. Immunogenicity and safety of combined diphtheria tetanus whole cell pertussis hepatitis B/Haemophilus influenzae type b vaccine in Indian infants. *Indian Pediatr.* 2007 Jul;44(7):505-10.
67. WHO. Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of recombinant hepatitis B vaccines. WHO Technical report series No. 978. World Health Organization,

- Geneva, 2013. Disponibile online:
http://www.who.int/biologicals/vaccines/TRS_978_Annex_4.pdf
68. Jack AD, Hall AJ, Maine N, Mendy M, Whittle HC. What level of hepatitis B antibody is protective? J Infect Dis. 1999 Feb;179(2):489-92.
69. WHO. Information sheet observed rate of vaccine reactions hepatitis B vaccine, June 2012. Disponibile online:
http://www.who.int/vaccine_safety/initiative/tools/Hep_B_Vaccine_rates_information_sheet.pdf
70. Bohlke K, Davis RL, Marcy SM, Braun MM, DeStefano F, Black SB, Mullooly JP, Thompson RS; Vaccine Safety Datalink Team. Risk of anaphylaxis after vaccination of children and adolescents. Pediatrics. 2003 Oct;112(4):815-20.
71. WHO. Immunization, Vaccines and Biologicals. Disease surveillance and burden. National passive surveillance. Hepatitis B. Ultimo aggiornamento 15/05/2018. Disponibile online:
http://www.who.int/immunization/monitoring_surveillance/burden/vpd/surveillance_type/passive/hepatitis/en/
72. WHO. Global Hepatitis Report 2017. Geneva: World Health Organization; 2017. Disponibile online
<http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/255016/9789241565455-eng.pdf?sequence=1>
73. WHO. Immunization, Vaccines and Biologicals. Data, statistics and graphics. Ultimo aggiornamento: 15/05/2018. Disponibile online:
http://www.who.int/immunization/monitoring_surveillance/data/en/
74. Wiesen E, Diorditsa S, Li X. Progress towards hepatitis B prevention through vaccination in the Western Pacific, 1990-2014. Vaccine. 2016 May 27;34(25):2855-62.
75. ECDC. Vaccine Scheduler. Hepatitis B: Recommended vaccination. Disponibile online:
<https://vaccine-schedule.ecdc.europa.eu/Scheduler/ByDisease?SelectedDiseaseId=6&SelectedCountryIdByDisease=-1>
76. National Health Service (NHS). Vaccinations. Hepatitis B vaccine. Ultimo aggiornamento 30/11/2015. Disponibile online:
<https://www.nhs.uk/conditions/vaccinations/hepatitis-b-vaccine/>
77. Boccacini S, Taddei C, Ceccherini V, Bechini A, Levi M, Bartolozzi D, Bonanni P. Economic analysis of the first 20 years of universal hepatitis B vaccination program in Italy: an a posteriori evaluation and forecast of future benefits. Hum Vaccin Immunother. 2013 May;9(5):1119-28.
78. Legge n. 165 del 27 Maggio 1991. Obbligatorietà della vaccinazione contro l'epatite virale B. in Gazzetta Ufficiale Serie Generale n. 127 del 01/06/1991. Disponibile online:
http://www.gazzettaufficiale.it/atto/serie_generale/caricaDettaglioAtto/originario?atto.dataPubblicazioneGazzetta=1991-06-01&atto.codiceRedazionale=091G0201&elenco30giorni=false
79. Riassunto delle caratteristiche del prodotto ENGERIX B 20 microgrammi/1 ml e ENGERIX B 10 microgrammi/0,5 ml. Documento reso disponibile da AIFA il 15/10/2016. Disponibile online: ENGERIX B 20 microgrammi/1 ml
80. Riassunto delle caratteristiche del prodotto HBVAXPRO 5 microgrammi/0,5ml, 10 microgrammi/ml, 40 microgrammi/ml. Documento reso disponibile da AIFA il 22/12/2017. Disponibile online:
https://farmaci.agenziafarmaco.gov.it/aifa/servlet/PdfDownloadServlet?pdfFileName=footer_000737_035262_RCP.pdf&retry=0&sys=m0b113
81. Riassunto delle caratteristiche del prodotto Fendrix. Documento reso disponibile da AIFA il 29/07/2017. Disponibile online:

- https://farmaci.agenziafarmaco.gov.it/aifa/servlet/PdfDownloadServlet?pdfFileName=footer_000231_036776_RCP.pdf&retry=0&sys=m0b1l3
82. Riassunto delle caratteristiche del prodotto Hexacima. Documento reso disponibile da AIFA il 26/01/2018. Disponibile online:
https://farmaci.agenziafarmaco.gov.it/aifa/servlet/PdfDownloadServlet?pdfFileName=footer_001634_042816_RCP.pdf&retry=0&sys=m0b1l3
83. Riassunto delle caratteristiche del prodotto Hexyon. Documento reso disponibile da AIFA il 10/04/2018. Disponibile online:
https://farmaci.agenziafarmaco.gov.it/aifa/servlet/PdfDownloadServlet?pdfFileName=footer_004285_042817_RCP.pdf&retry=0&sys=m0b1l3
84. Riassunto delle caratteristiche del prodotto Vaxelis. Documento reso disponibile da AIFA il 23/03/2018. Disponibile online:
https://farmaci.agenziafarmaco.gov.it/aifa/servlet/PdfDownloadServlet?pdfFileName=footer_004367_044721_RCP.pdf&retry=0&sys=m0b1l3
85. Riassunto delle caratteristiche del prodotto Infanrix Hexa. Documento reso disponibile da AIFA il 27/09/2017. Disponibile online:
https://farmaci.agenziafarmaco.gov.it/aifa/servlet/PdfDownloadServlet?pdfFileName=footer_000231_034960_RCP.pdf&retry=0&sys=m0b1l3
86. WHO. Guidelines for the prevention, care and treatment of persons with chronic hepatitis B infection World Health Organization, Geneva, 2015. Disponibile online:
http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/154590/9789241549059_eng.pdf?sequence=1
87. 2012/506/EC: Commission Implementing Decision of 8 August 2012 amending Decision 2002/253/EC laying down case definitions for reporting communicable diseases to the Community network under Decision No 2119/98/EC of the European Parliament and of the Council.
88. ECDC. Surveillance systems overview [internet]. Stockholm: ECDC; 2017. Disponibile online: <https://ecdc.europa.eu/en/publications-data/surveillance-systems-overview-2016>
89. ECDC. Hepatitis B. In: ECDC. Annual epidemiological report for 2016. Stockholm: ECDC; 2018. Disponibile online:
https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/documents/AER_for_2016-hepatitis-B-rev1.PDF
90. Epicentro. Epatite virale. Aspetti epidemiologici in Italia. Revisione a cura del coordinamento epidemiologico Seieva (Sistema Epidemiologico Integrato dell'epatite virale acuta). Ultimo aggiornamento: 23/03/2017. Disponibile online:
<http://www.epicentro.iss.it/problemi/epatite/EpidemiologiaItalia.asp>
91. Epicentro. Epatite virale. Epidemiologia – dati Seieva. Dati epidemiologici al 31 Dicembre 2017. Disponibile online: <http://www.epicentro.iss.it/problemi/epatite/datiseieva.asp>
92. Ministero della Salute. Piano Nazionale per la prevenzione delle epatiti virali da virus B e C (PNEV). 27 ottobre 2015. Disponibile online:
http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pubblicazioni_2437_allegato.pdf
93. SEIEVA (ISS). Bollettino SEIEVA. Epidemiologia delle Epatiti Virali Acute in Italia. N. 2 – aggiornamento 2017. Marzo 2018. Disponibile online:
<http://www.epicentro.iss.it/problemi/epatite/bollettino/Bollettino-n.2-2017.pdf>

94. ARS Toscana. La sorveglianza epidemiologica delle malattie infettive in Toscana. Rapporto. Ottobre 2018. Disponibile online: https://www.ars.toscana.it/images/rapporto_malattie_infettive.pdf
95. Ministero del Lavoro, della Salute e delle Politiche Giovanili. Vaccinazioni dell'età pediatrica. Anno 200. Coperture vaccinali (24 mesi) (per 100 abitanti), calcolate sui riepiloghi inviati dalle Regioni e PP.AA. Dati aggiornati a gennaio 2009. Disponibile online: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_tavole_20_allegati_iitemAllegati_0_fileAllegati_itemFile_0_file.pdf
96. Ministero del Lavoro, della Salute e delle Politiche Giovanili. Vaccinazioni dell'età pediatrica. Anno 2001. Coperture vaccinali (24 mesi) (per 100 abitanti), calcolate sui riepiloghi inviati dalle Regioni e PP.AA. Dati aggiornati a gennaio 2009. Disponibile online: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_tavole_20_allegati_iitemAllegati_1_fileAllegati_itemFile_0_file.pdf
97. Ministero del Lavoro, della Salute e delle Politiche Giovanili. Vaccinazioni dell'età pediatrica. Anno 2002. Coperture vaccinali (24 mesi) (per 100 abitanti), calcolate sui riepiloghi inviati dalle Regioni e PP.AA. Dati aggiornati a gennaio 2009. Disponibile online: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_tavole_20_allegati_iitemAllegati_9_fileAllegati_itemFile_0_file.pdf
98. Ministero del Lavoro, della Salute e delle Politiche Giovanili. Vaccinazioni dell'età pediatrica. Anno 2003. Coperture vaccinali (24 mesi) (per 100 abitanti), calcolate sui riepiloghi inviati dalle Regioni e PP.AA. Dati aggiornati a gennaio 2009. Disponibile online: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_tavole_20_allegati_iitemAllegati_10_fileAllegati_itemFile_0_file.pdf
99. Ministero del Lavoro, della Salute e delle Politiche Giovanili. Vaccinazioni dell'età pediatrica. Anno 2004. Coperture vaccinali (24 mesi) (per 100 abitanti), calcolate sui riepiloghi inviati dalle Regioni e PP.AA. Dati aggiornati a gennaio 2009. Disponibile online: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_tavole_20_allegati_iitemAllegati_11_fileAllegati_itemFile_0_file.pdf
100. Ministero del Lavoro, della Salute e delle Politiche Giovanili. Vaccinazioni dell'età pediatrica. Anno 2005. Coperture vaccinali (24 mesi) (per 100 abitanti), calcolate sui riepiloghi inviati dalle Regioni e PP.AA. Dati aggiornati a gennaio 2009. Disponibile online: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_tavole_20_allegati_iitemAllegati_12_fileAllegati_itemFile_0_file.pdf
101. Ministero del Lavoro, della Salute e delle Politiche Giovanili. Vaccinazioni dell'età pediatrica. Anno 2006. Coperture vaccinali (24 mesi) (per 100 abitanti), calcolate sui riepiloghi inviati dalle Regioni e PP.AA. Dati aggiornati a gennaio 2009. Disponibile online: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_tavole_20_allegati_iitemAllegati_13_fileAllegati_itemFile_0_file.pdf
102. Ministero del Lavoro, della Salute e delle Politiche Giovanili. Vaccinazioni dell'età pediatrica. Anno 2007. Coperture vaccinali (24 mesi) (per 100 abitanti), calcolate sui riepiloghi inviati dalle Regioni e PP.AA. Dati aggiornati a gennaio 2009. Disponibile

online:

http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_tavole_20_allegati_iitemAllegati_14_fileAllegati_itemFile_0_file.pdf

103. Ministero della Salute. Vaccinazioni dell'età pediatrica. Anno 2008. Coperture vaccinali (24 mesi) (per 100 abitanti), calcolate sui riepiloghi inviati dalle Regioni e PP.AA. Dati aggiornati al 16/03/2010. Disponibile online: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_tavole_20_allegati_iitemAllegati_15_fileAllegati_itemFile_0_file.pdf
104. Ministero della Salute. Anno 2009. Coperture vaccinali (24 mesi) (per 100 abitanti), calcolate sui riepiloghi inviati dalle Regioni e PP.AA. Dati aggiornati all'8/11/2010. Disponibile online: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_tavole_20_allegati_iitemAllegati_8_fileAllegati_itemFile_0_file.pdf
105. Ministero della Salute. Anno 2010. Coperture vaccinali (24 mesi) (per 100 abitanti), calcolate sui riepiloghi inviati dalle Regioni e PP.AA. Dati aggiornati al 16/04/2012. Disponibile online: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_tavole_20_allegati_iitemAllegati_7_fileAllegati_itemFile_0_file.pdf
106. Ministero della Salute. Anno 2011. Coperture vaccinali (24 mesi) (per 100 abitanti), calcolate sui riepiloghi inviati dalle Regioni e PP.AA. Dati aggiornati al 17/12/2012. Disponibile online: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_tavole_20_allegati_iitemAllegati_6_fileAllegati_itemFile_0_file.pdf
107. Ministero della Salute. Anno 2012. Coperture vaccinali (24 mesi) (per 100 abitanti), calcolate sui riepiloghi inviati dalle Regioni e PP.AA. Dati aggiornati al 02/10/2013. Disponibile online: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_tavole_20_allegati_iitemAllegati_5_fileAllegati_itemFile_0_file.pdf
108. Ministero della Salute. Anno 2013. Coperture vaccinali (24 mesi) (per 100 abitanti), calcolate sui riepiloghi inviati dalle Regioni e PP.AA. Dati aggiornati al 11/08/2015. Disponibile online: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_tavole_20_allegati_iitemAllegati_0_fileAllegati_itemFile_1_file.pdf
109. Ministero della Salute. Anno 2014. Coperture vaccinali (24 mesi) (per 100 abitanti), calcolate sui riepiloghi inviati dalle Regioni e PP.AA. Dati aggiornati al 20/01/2016. Disponibile online: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_tavole_20_allegati_iitemAllegati_0_fileAllegati_itemFile_2_file.pdf
110. Ministero della Salute. Anno 2015. Coperture vaccinali (24 mesi) (per 100 abitanti), calcolate sui riepiloghi inviati dalle Regioni e PP.AA. Disponibile online: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_tavole_20_allegati_iitemAllegati_0_fileAllegati_itemFile_3_file.pdf
111. Ministero della Salute. Anno 2016. Coperture vaccinali (24 mesi) (per 100 abitanti), calcolate sui riepiloghi inviati dalle Regioni e PP.AA. Dati aggiornati al 05/06/2017. Disponibile online: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_tavole_20_allegati_iitemAllegati_0_fileAllegati_itemFile_5_file.pdf

112. Ministero della Salute. Anno 2017. Coperture vaccinali (24 mesi) (per 100 abitanti), calcolate sui riepiloghi inviati dalle Regioni e PP.AA. Dati aggiornati al 28/02/2018. Disponibile online: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_tavole_20_allegati_iitemAllegati_0_fileAllegati_it_emFile_6_file.pdf
113. Ministero della Salute. Anno 2017. Coperture vaccinali (per 100 abitanti) a 36 mesi, calcolate sui riepiloghi inviati dalle Regioni e PP.AA. Dati aggiornati al 28/02/2018. Disponibile online: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_tavole_20_allegati_iitemAllegati_1_fileAllegati_it_emFile_6_file.pdf
114. Ministero della Salute. Anno 2017. Coperture vaccinali (per 100 abitanti) a 48 mesi, calcolate sui riepiloghi inviati dalle Regioni e PP.AA. Dati aggiornati al 28/02/2018. Disponibile online: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_tavole_20_allegati_iitemAllegati_2_fileAllegati_it_emFile_6_file.pdf
115. Ministero della Salute. Anno 2017. Coperture vaccinali (per 100 abitanti) eseguite entro gli 8 anni, calcolate sui riepiloghi inviati dalle Regioni e PP.AA. Dati aggiornati al 28/02/2018. Disponibile online: http://www.salute.gov.it/imgs/C_17_tavole_20_allegati_iitemAllegati_4_fileAllegati_it_emFile_6_file.pdf
116. ARS Regione Toscana. Portale Dati Marsupio. Copertura vaccinale a 24 mesi per le vaccinazioni anti-epatite B. Data pubblicazione: 15/05/2018. Disponibile online: https://www.ars.toscana.it/portale-dati-marsupio-dettaglio.html?codice_asl=9000#602
117. Amodio E, Tramuto F, Cracchiolo M, Sciuto V, De Donno A, Guido M, Rota M C, Gabutti G, Vitale F. The impact of ten years of infant universal Varicella vaccination in Sicily, Italy (2003–2012). *Human Vaccines & Immunotherapeutics*. 2015; 11:1, 236–239.
118. Gabutti G, Penna C, Rossi M, Salmaso S, Rota M C, Bella A, Crovari P and The Serological Study Group. The seroepidemiology of varicella in Italy. *Epidemiol. Infect.* (2001), 126, 433±440.
119. Gabutti G, Rota M C, Salmaso S, Bruzzone B M, Bella A, Crovari P and the Serological Study Group. Epidemiology of measles, mumps and Rubella in Italy. *Epidemiol. Infect.* (2002), 129, 543–550, DOI: 10.1017/S0950268802007677.
120. Gabutti G, Rota M C, Guido M, De Donno A, Bella A, Ciofi degli Atti ML, Crovari P, and the Seroepidemiology Group. The epidemiology of Varicella Zoster Virus infection in Italy. *BMC Public Health*. 2008, 8:372 doi:10.1186/1471-2458-8-372.
121. Gabutti G, Rota M C, De Donno A, Guido M, Bella A, Idolo A, Lupi S, Brignole G e il Gruppo di studio sulla sieroepidemiologia. Sieroepidemiologia dell'infezione da VZV in Italia: valutazione dell'impatto della vaccinazione estensiva. Sero-epidemiology of VZV infection in Italy: impact evaluation of extensive vaccination. *e&p* anno 38 (6) novembre-dicembre 2014.
122. Rota M C, Bella A, Gabutti B, Giambi C, Filia A, Guido M, De Donno A, Crovari P, Ciofi degli Atti M L, on behalf of the Serological Study Group. Rubella seroprofile of the Italian population: an 8-year comparison. *Epidemiol. Infect.* 2007, 135, 555–562, doi:10.1017/S0950268806007400
123. Rota M C, Massaria M, Gabutti G, Guido M, De Donno A, Ciofi degli Atti M L. Measles serological survey in the Italian population: Interpretation of results using mixture model. *Vaccine* 26. 2008; 4403–4409, DOI: 10.1016/j.vaccine.2008.05.094.
124. de Melker H, Pebody R G, Edmunds W L, Levy-Bruhl D, Valle M, Rota M C, Salmaso S, van den Hof S, Berbers G, Saliou P, Conyn-van Spaendonck M, Crovari P,

- Davidkin I, Gabutti G, Hesketh L, Morgan-Capner P, Plesner A M, Raux M, Tischer A and Miller E. The seroepidemiology of measles in Western Europe. *Epidemiol. Infect.* (2001), 126, 249±259.
125. Pebody R g, Edmunds W L, Conyn-van Spaendonck M, Olin P, Berbers G, Rebiere I, Lecoer H, Crovari P, Davidkin I, Gabutti G, Gerike E, Giordano C, Hesketh L, Plesner A M, Raux M, Rota M C, Salmaso S, Tischer A, Valle M, and Miller E. The seroepidemiology of rubella in western Europe. *Epidemiol. Infect.* (2000), 125, 347±357.
 126. CDC. Interpretation of Hepatitis B Serologic Test Results. Disponibile online: <https://www.cdc.gov/hepatitis/hbv/pdfs/serologicchartv8.pdf>
 127. Epicentro. Tetano. Informazioni generali. 2015. Disponibile online: <http://www.epicentro.iss.it/problemi/tetano/tetano.asp>
 128. Epicentro. Morbillo. Morbillo in Italia: bollettino settimanale. Ultimo aggiornamento: 13/12/2017. Disponibile online: <http://www.epicentro.iss.it/problemi/morbillo/Infografica2017.asp>
 129. Ciofi degli Atti ML, Rota MC, Mandolini D, Bella A, Gabutti G, Crovari P, Salmaso S. Assessment of varicella underreporting in Italy. *Epidemiol Infect.* 2002 Jun;128(3):479-84.
 130. Bechini A, Boccalini S, Baldo V, Cocchio S, Castiglia P, Gallo T, Giuffrida S, Locuratolo F, Tafuri S, Martinelli D, Prato R, Amodio E, Vitale F, Bonanni P. Impact of universal vaccination against varicella in Italy. *Hum Vaccin Immunother.* 2015;11(1):63-71.
 131. Busby C, Chesterley N. A shot in the arm: how to improve vaccination policy in Canada. *C.D. Howe Institute* 2015(Commentary 421):1–28.
 132. Wilson SE, Quach S, MacDonald SE, Naus M, Deeks SL, Crowcroft NS, Mahmud SM, Tran D, Kwong J, Tu K, Gilbert NL, Johnson C, Desai S. Methods used for immunization coverage assessment in Canada, a Canadian Immunization Research Network (CIRN) study. *Hum Vaccin Immunother.* 2017 Aug 3;13(8):1928-1936.
 133. Williams WW, Lu PJ, O'Halloran A, Kim DK, Grohskopf LA, Pilishvili T, Skoff TH, Nelson NP, Harpaz R, Markowitz LE, Rodriguez-Lainz A, Bridges CB; Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Surveillance of Vaccination Coverage Among Adult Populations - United States, 2014. *MMWR Surveill Summ.* 2016 Feb 5;65(1):1-36.
 134. Crowcroft NS, Levy-Bruhl D. Registries: an essential tool for maximizing the health benefits of immunisation in the 21st century. *Euro Surveill* 2017;22 (17):17–9.
 135. Rafferty E, Hetherington E, Tough S, Aujla S, McNeil D, Saini V, McDonald S, MacDonald SE. The impact of time since vaccination and study design on validity in parental recall of childhood vaccination status in the All Our Families cohort. *Vaccine.* 2018 May 17;36(21):2953-2959.
 136. Assad S, Francis A. Over a decade of experience with a yeast recombinant hepatitis B vaccine. *Vaccine.* 1999 Aug 20;18(1-2):57-67.
 137. Jilg W, Schmidt M, Deinhardt F. Decline of anti-HBs after hepatitis B vaccination and timing of revaccination. *Lancet.* 1990 Jan 20;335(8682):173-4.
 138. Van Damme P. Long-term Protection After Hepatitis B Vaccine. *J Infect Dis.* 2016 Jul 1;214(1):1-3.
 139. Banatvala JE, Van Damme P. Hepatitis B vaccine -- do we need boosters? *J Viral Hepat.* 2003 Jan;10(1):1-6.
 140. Yuen MF, Lim WL, Chan AO, Wong DK, Sum SS, Lai CL. 18-year follow-up study of a prospective randomized trial of hepatitis B vaccinations without booster doses in children. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2004 Oct;2(10):941-5.
 141. Petersen KM, Bulkow LR, McMahon BJ, Zanis C, Getty M, Peters H, Parkinson AJ. Duration of hepatitis B immunity in low risk children receiving hepatitis B vaccinations from birth. *Pediatr Infect Dis J.* 2004 Jul;23(7):650-5.

142. Hammitt LL, Hennessy TW, Fiore AE, Zanis C, Hummel KB, Dunaway E, Bulkow L, McMahon BJ. Hepatitis B immunity in children vaccinated with recombinant hepatitis B vaccine beginning at birth: a follow-up study at 15 years. *Vaccine*. 2007 Sep 28;25(39-40):6958-64.
143. FitzSimons D, Hendrickx G, Vorsters A, Van Damme P. Hepatitis B vaccination: a completed schedule enough to control HBV lifelong? Milan, Italy, 17-18 November 2011. *Vaccine*. 2013 Jan 11;31(4):584-90.
144. Carollo M, Palazzo R, Bianco M, Pandolfi E, Chionne P, Fedele G, Tozzi AE, Carsetti R, Romanò L, Ausiello CM. Hepatitis B specific T cell immunity induced by primary vaccination persists independently of the protective serum antibody level. *Vaccine*. 2013 Jan 7;31(3):506-13.
145. Tosti ME. Presentation on VHPB website: Breakthrough HBV infections in vaccinated people: a ten-year surveillance study in Italy. 2011 Disponibile online: http://www.vhpb.org/files/html/Meetings_and_publications/Presentations/MILS53.pdf.
146. Bonanni P, Pesavento G, Bechini A, Tiscione E, Mannelli F, Benucci C, Nostro AL. Impact of universal vaccination programmes on the epidemiology of hepatitis B: 10 years of experience in Italy. *Vaccine*. 2003 Jan 30;21(7-8):685-91.
147. Boccalini S, Pellegrino E, Tiscione E, Pesavento G, Bechini A, Levi M, Rapi S, Mercurio S, Mannelli F, Peruzzi M, Berardi C, Bonanni P. Sero-epidemiology of hepatitis B markers in the population of Tuscany, Central Italy, 20 years after the implementation of universal vaccination. *Hum Vaccin Immunother*. 2013 Mar;9(3):636-41.
148. Steiner M, Ramakrishnan G, Gartner B, Van Der Meeren O, Jacquet JM, Schuster V. Lasting immune memory against hepatitis B in children after primary immunization with 4 doses of DTPa-HBV-IPV/Hib in the first and 2nd year of life. *BMC Infect Dis*. 2010 Jan 15;10:9.
149. Zinke M, Kappes R, Kindler K, Paulus-Koschik A, Goering U, Disselhoff J, Soemantri P, Grunert D, Laakmann KH, Gunasekaran R, Gartner B, Jacquet JM. Immune memory to hepatitis B virus in 4-9-year old children vaccinated in infancy with four doses of hexavalent DTPa-HBV-IPV/Hib vaccine. *Hum Vaccin*. 2009 Sep;5(9):592-8.
150. Zanetti AR, Romanò L, Giambi C, Pavan A, Carnelli V, Baitelli G, Malchiodi G, Valerio E, Barale A, Marchisio MA, Montù D, Tozzi AE, D'Ancona F; study group. Hepatitis B immune memory in children primed with hexavalent vaccines and given monovalent booster vaccines: an open-label, randomised, controlled, multicentre study. *Lancet Infect Dis*. 2010 Nov;10(11):755-61.
151. Romanò L, Zanetti AR. Booster hepatitis B vaccination not necessary for long-term protection in children immunised with hexavalent vaccines. *J Prev Med Hyg*. 2011; 52:45-6.
152. Giambi C, Bella A, Barale A, Montù D, Marchisio M, Oddone M, Zito S, Rapicetta M, Chionne P, Madonna E, Ciofi degli Atti ML. A cohort study to evaluate persistence of hepatitis B immunogenicity after administration of hexavalent vaccines. *BMC Infect Dis*. 2008 Jul 28;8:100.
153. Agenzia Internazionale per la ricerca sul cancro, Organizzazione Mondiale della Sanità, Unione Europea. Codice Europeo contro il cancro. 12 modi per ridurre il tuo rischio di cancro. Disponibile online: <https://cancer-code-europe.iarc.fr/index.php/it/>