



Università degli Studi di Genova



Dipartimento di Scienze della Salute



Corso di Dottorato di ricerca in Epidemiologia e Prevenzione

Scuola di Scienze e Tecnologie Biomediche

Curriculum: Prevenzione Vaccinale (XXVIII ciclo)

(Direttore: Chiar.mo Prof. Giancarlo Icardi)

Immunogenicità e sicurezza dei vaccini combinati esavalenti: comparazione dei prodotti attualmente disponibili e considerazioni pratiche

TESI DI DOTTORATO

Relatore:

Chiar.mo Prof. Giancarlo Icardi

Candidata:

Dott.ssa Ilaria Barberis

***“Un buon ricercatore deve
avere enorme curiosità,
tenacia e una grande onestà.
Se una sua scoperta gli sembra
troppo bella per essere vera,
ci sono buone possibilità
che non lo sia.”
(Albert Bruce Sabin)***

Indice

Introduzione	4
Metodi	5
Epidemiologia delle malattie prevenibili con il vaccino esavalente	5
Il ciclo di sviluppo dei vaccini esavalenti	18
Normativa sull'obbligo vaccinale e passaggio dall'uso di vaccini monovalenti a preparati polivalenti ..	20
Vaccini combinati esavalenti	23
RISULTATI	29
Immunogenicità delle componenti antigeniche contenute nei preparati combinati esavalenti	29
Sicurezza dei vaccini esavalenti	34
Considerazioni pratiche	36
Il Riassunto delle Caratteristiche del Prodotto: precisazioni sulla terminologia	36
Vaccinazione nei nati pre-termine	39
Vaccinazione nei nati da madre HBsAg positiva	41
Intercambiabilità	43
CONCLUSIONI	43
BIBLIOGRAFIA:	46

Introduzione

I vaccini, fin dallo sviluppo delle prime formulazioni, sono stati considerati uno dei principali e più efficaci strumenti di prevenzione che permettono di evitare patologie di impatto per la Sanità Pubblica, garantendo il mantenimento di un buono stato di salute individuale e collettivo ed evitando la diffusione di epidemie come avvenuto nei decenni passati. [1]

Le innovazioni tecnologiche hanno permesso negli ultimi anni l'utilizzo e la distribuzione su ampia scala dei preparati combinati, che garantiscono, tramite un'unica somministrazione, l'immunizzazione simultanea verso diversi patogeni, con numerosi vantaggi in termini di sicurezza, organizzativi ed economici. [2]

Il ridotto numero di iniezioni necessarie rispetto all'utilizzo dei singoli preparati ha il beneficio di ridurre il numero di accessi agli ambulatori vaccinali, e conseguentemente di ridurre le possibilità di un mancato completamento del programma vaccinale legato a problemi logistici ed organizzativi, garantendo un'efficace protezione contro i patogeni e facilitando l'eventuale introduzione di nuovi vaccini all'interno del calendario vaccinale. [3]

Sotto il profilo della sicurezza, i vantaggi dell'uso dei vaccini combinati sono legati al minor numero di iniezioni, che riduce la frequenza di eventi avversi correlabili ad essa, quali dolore, rossore o gonfiore a livello del sito di inoculo, che sono tra gli eventi avversi attesi più frequentemente riportati in letteratura. [4]

Per la sanità pubblica l'impiego di vaccini coniugati assume, inoltre, un importante valore economico e sociale, legato al risparmio di risorse per i casi di malattia evitati, per il ridotto numero di accessi ai servizi vaccinali e per la riduzione dei costi nella produzione dei vaccini. [5]

La presente tesi di dottorato ha lo scopo di comparare i preparati vaccinali combinati esavalenti ad oggi disponibili in Italia, che permettono di proteggere efficacemente la popolazione in età infantile contro sei diverse malattie: difterite, tetano, pertosse, poliomielite, epatite B ed infezione da *Haemophilus Influenzae* di tipo b.

Metodi

Epidemiologia delle malattie prevenibili con il vaccino esavalente

Il Piano Nazionale Prevenzione Vaccinale (PNPV) 2017-2019, attualmente vigente in Italia, prevede vaccinazioni di richiamo dopo il ciclo primario per quattro delle malattie i cui antigeni sono contenuti nel vaccino esavalente, cioè difterite, tetano, poliomelite e pertosse, per garantire una prevenzione efficace e duratura nel tempo. [6]

In particolare i momenti previsti per l'immunizzazione di richiamo sono, come illustrati in figura 1:

- in età prescolare a 6 anni, con vaccino difterite-tetano-pertosse-poliomelite (DTPa-IPV), vaccino pediatrico con quantità antigenica piena per difterite;
- in adolescenza tra i 12 e i 19 anni, con vaccino difterite-tetano-pertosse-poliomelite (dTpa-IPV), vaccino per adulti con quantità antigenica ridotta per difterite;
- in età adulta, da ripetersi ogni 10 anni, con vaccino difterite-tetano-pertosse (dTpa), vaccino per adulti con quantità antigenica ridotta per difterite.

Figura 1. Calendario per la Vita (fonte: Piano Nazionale Prevenzione Vaccinale 2017-2019)⁶

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																(6)
Meningococco C								Men C ⁸				Men ACWY coniugato				(7)
Meningococco B*^		Men B	Men B		Men B			Men B								
HPV												HPV*: 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)

Inoltre, con la circolare datata 21 novembre 2018 “Vaccinazioni raccomandate per le donne in età fertile e in gravidanza” e come ripreso anche dal documento congiunto redatto dal gruppo di lavoro costituito dai rappresentanti di diverse società scientifiche, tra cui SIGO, SIMP, AOGOI, AGUI, SITI, SIN, FNOPO, Rete Interaziendale Milano Materna Infantile (RIMMI), Vivere Onlus, Cittadinanzattiva, dal titolo “Vaccinazioni in gravidanza – proteggila per proteggerli”, redatto a marzo 2019, la vaccinazione contro difterite, tetano e pertosse (dTpa) è raccomandata durante ogni gravidanza nel terzo trimestre, idealmente intorno alla 28a settimana di gestazione, al fine di consentire alla gestante la produzione di un quantitativo sufficiente di anticorpi e il loro conseguente passaggio transplacentare.

La vaccinazione va ripetuta ad ogni nuova gravidanza, anche se la donna è già stata vaccinata recentemente ed è in regola con i richiami decennali, o abbia contratto la pertosse recentemente, per garantire un’efficace protezione al nascituro attraverso il trasferimento di un adeguato livello di anticorpi.

L’immunizzazione attiva della madre nelle ultime settimane di gravidanza consente il trasferimento passivo di IgG materne, in grado di proteggere il neonato nel primo periodo di vita autonoma, fino allo sviluppo di una propria memoria immunologica, garantita attraverso l’immunizzazione attiva del bambino, a iniziare dai 3 mesi di vita. [7,8]

Grazie a queste strategie, già da diversi anni la vaccinazione con preparato esavalente in età infantile ha determinato un efficace impatto nella riduzione dei casi confermati di queste malattie in Europa, nonostante in alcuni casi, come per la pertosse, si abbia avuto un aumento della numerosità negli ultimi anni, come riportato in tabella 1.

Tabella 1. Casi confermati di malattie prevenibili con vaccino esavalente in Europa, periodo 2013-2017 (fonte: report ECDC, mod.)

Patologia	2013	2014	2015	2016	2017
Difterite	32	38	65	49	39
Epatite B	20668	24984	25140	29233	26262
<i>H. Influenzae</i>	2601	2799	3177	3384	3888
Pertosse	21805	40926	40133	48446	42242
Poliomelite	0	0	0	0	0
Tetano	136	98	117	89	82

Difterite

La difterite è un'infezione localizzata delle membrane mucose o della cute dovuta al *Corynebacterium diphtheriae*, i cui effetti tossici sono causati dal rilascio di una tossina, che si localizza a livello delle alte vie respiratorie (faringe, laringe, tonsille), a livello cutaneo, o più raramente alle mucose di altre sedi, quali congiuntiva, area vulvo-vaginale, condotto auditivo esterno.

Secondo i dati raccolti e diffusi dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS), nel mondo nel 2013, i casi di difterite dichiarati tramite i sistemi di notifica e sorveglianza ammontavano a 4680. [9]

Inoltre, secondo le più recenti stime OMS e Unicef a livello globale, 12,9 milioni di neonati, quasi 1 su 10, non hanno ricevuto alcun tipo di vaccinazione nel 2016: questi neonati hanno perso la prima dose di vaccino contro difterite-tetano-pertosse (DTP) e sono, quindi, rimasti suscettibili a queste malattie potenzialmente fatali. Inoltre, si stima che 6,6 milioni di bambini, che hanno ricevuto la loro prima dose di DTP, non hanno completato le tre dosi (DTP3) nel 2016. [10]

Secondo i nuovi dati disponibili, 130 dei 194 Stati membri dell'OMS hanno raggiunto e mantenuto almeno il 90% di copertura vaccinale per DTP3 a livello nazionale, che era uno degli obiettivi fissati nel piano d'azione globale. Tuttavia, circa 10 milioni di neonati ancora devono essere vaccinati in 64 Paesi per raggiungere almeno il 90% di copertura.

Nel 2016 otto Paesi avevano una copertura inferiore al 50% di DTP3, tra cui la Repubblica Centrafricana, il Ciad, la Guinea Equatoriale, la Nigeria, la Somalia, il Sud Sudan, la Repubblica Araba e l'Ucraina.

L'incidenza della malattia è in calo costante dagli anni Ottanta, con un andamento che riflette l'estensione della copertura vaccinale in età infantile, in maniera capillare in diversi Paesi.

Nonostante ciò, la difterite è una malattia che si manifesta ancora non solo in Paesi a basso reddito, ma anche in Europa e Nord America, causando sporadiche epidemie con morti e sequele gravi.

Negli ultimi anni, e in particolare, da luglio 2016, è in corso in Venezuela un'epidemia di difterite.

Secondo i dati aggiornati alla 16a settimana epidemiologica del 2018 i casi sospetti erano 1716, quelli confermati 1086 (di cui 350 confermati in laboratorio e 736 confermati epidemiologicamente, con una letalità del 14,7%. Sono stati registrati casi in tutte le fasce di età, con un picco di incidenza nella fascia 5-19 anni. In risposta all'epidemia sono state intensificate la sorveglianza epidemiologica, l'identificazione dei casi, l'assistenza sanitaria, la vaccinazione

dei bambini e degli adolescenti tra i 7 e i 15 anni di età, l'aggiornamento continuo del personale sanitario e gli interventi di educazione sanitaria. [11]

L'epidemia trova una delle sue cause in un abbassamento delle coperture vaccinali in Venezuela, che negli ultimi 5 anni sono sempre state inferiori al valore soglia del 95%. [12]

I dati europei riportati nel più recente Report dell'European Centre for Disease prevention and Control (ECDC), riferiti all'anno 2017, documentano nei Paesi dell' EU/ EEA una progressiva riduzione dei casi di difterite da 42 per 100.000 abitanti nel 2008, a meno di 0,01 per 100.000 nel 2015. [13]

Tuttavia, rispettivamente nel 2015 e nel 2016 sono stati segnalati due casi mortali di difterite in Spagna e in Belgio, e tra il 2009 e il 2014, i Paesi UE/EEA hanno riportato all'ECDC 140 casi, con una tendenza all'aumento a partire dal 2011. [14]

Nel 2015 in Europa si sono registrati anche 14 casi in Germania e 14 in Francia, oltre a 1 caso in Danimarca e 1 in Svezia. [15]

Questi dati confermano la necessità di tenere alta l'attenzione nei confronti della sorveglianza e prevenzione della malattia, e di comprendere la vaccinazione anti-difterite in tutti i calendari vaccinali degli Stati membri UE/EEA, mantenendo il valore di copertura raggiunto che è > 95%.

In Italia, l'incidenza di difterite è drasticamente diminuita dopo l'introduzione della vaccinazione obbligatoria, e dal 1996 al 2014 non sono più stati registrati casi di difterite dovuti a infezione da *C. diphtheriae* tossinogenico. [16]

Tra il 2015 e il 2017, i casi di difterite, confermati microbiologicamente presso l'Istituto Superiore di Sanità, dove si trova il laboratorio di riferimento nazionale per la difterite, all'interno del Dipartimento di Malattie Infettive, sono stati due, entrambi provenienti dal Nord Italia e causati da *C. ulcerans*. Negli stessi anni sono stati segnalati anche sei casi di infezioni dovuti a ceppi di *C. diphtheriae* non produttori di tossina. [17]

Alcuni ceppi di *C. diphtheriae* privi dei geni della tossina difterica possono colonizzare le alte vie respiratorie e diffondersi nell'organismo, causando faringiti, batteriemie, endocarditi, artriti settiche, ascessi e polmoniti. La presenza di ceppi non tossinogenici di *C. diphtheriae* è stata documentata di recente negli Stati Uniti e in Europa, inclusa l'Italia. In rari casi, i geni della tossina potrebbero essere nuovamente prodotti da alcuni di questi ceppi per ricombinazione omologa tra i diversi corinebatteriofagi, o per revisione spontanea al ceppo tossinogenico, quindi

rimane necessario mantenere un tempestivo sistema di notifica e sorveglianza anche di questi ceppi per evitare la loro diffusione e l'insorgenza di casi sintomatici. [18,19]

TETANO

Il tetano è una malattia infettiva causata dal *Clostridium tetani*, e più precisamente dalla sua esotossina, la tetanospasmina, che viene inoculata nell'organismo umano attraverso punture profonde, ustioni o graffi, e determina paralisi e contratture toniche della muscolatura scheletrica, risultando spesso letale, soprattutto in bambini ed anziani.

Nel 1989, la *World Health Assembly* dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) ha stabilito l'obiettivo di ridurre l'incidenza del tetano a meno di un caso per 1000 nuovi nati, e negli anni Novanta ha fissato l'obiettivo mondiale di eliminazione del tetano materno, come ulteriore traguardo da raggiungere dopo l'eliminazione del tetano neonatale. [20]

Attualmente il tetano è stato eliminato in 25 Paesi anche grazie alla vaccinazione, con un ciclo a due dosi, di oltre 113 milioni di donne in età fertile.

La mortalità dovuta al tetano neonatale è ancora causa di 50mila decessi all'anno, ma ha visto una riduzione del 92% rispetto ai valori registrati alla fine degli anni Ottanta.

In Europa i più recenti dati di sorveglianza, disponibili sul report dell'ECDC dell'anno 2015, riportano che 12 Paesi appartenenti all'Unione Europea e allo Spazio Economico Europeo hanno segnalato 117 casi di tetano, di cui 67 confermati in laboratorio. Italia, Polonia, Francia, Romania, Regno Unito e Spagna hanno notificato il maggior numero di casi. L'Italia ha notificato 48 dei casi totali, confermandosi come il Paese con l'incidenza più elevata di questa malattia dal 2006 al 2015 (0,08 casi per 100.000 abitanti nel 2015). [21]

L'Italia, inoltre, risulta essere anche il Paese europeo con il più alto tasso di ospedalizzazione e notifica dovuti a tetano.

Il trend si è mantenuto costante anche nel 2017, quando su 82 casi totali in Europa, in Italia i casi di tetano notificati sono stati circa 33, confermando la maggiore incidenza in Italia, soprattutto tra anziani non vaccinati (o che non hanno effettuato i richiami previsti dal calendario vaccinale per la vita), con una riduzione dei casi del 91,4% rispetto all'epoca pre-vaccinale. [22]

La fascia di età maggiormente colpita rimane quella degli ultra 65enni (con un'incidenza pari a 0,02 per 100.000 abitanti), ed è correlata alla mancata effettuazione della vaccinazione o alla non somministrazione di dosi *booster*.

La popolazione femminile, rappresenta il 63% dei casi riportati, anche perché spesso nei decenni passati la popolazione maschile veniva sottoposta ad immunizzazione nel corso del servizio di leva militare obbligatorio.

Negli ultimi 15 anni, si è registrato un picco delle notifiche di malattia nella stagione estiva (giugno-ottobre), probabilmente in correlazione con l'attività all'aperto e quindi con una maggiore esposizione a possibili incidenti o infortuni a contatto con suolo o terriccio contaminati in questi mesi. [23]

Dopo il ciclo primario di vaccinazione, si prevede un'immunizzazione di richiamo ogni 10 anni anche in età adulta, necessaria per il decadimento del titolo anticorpale a cui si assiste con il passare del tempo, e importante perché l'intervallo di tempo di cui necessita la memoria immunologica per la produzione di anticorpi potrebbe essere potenzialmente inferiore al tempo intercorso tra il contagio e la morte.

Nel periodo 2001-2010 erano stati notificati 2 casi di tetano in età infantile (età <14 anni); successivamente, in Italia non sono stati segnalati casi nei bambini fino a giugno 2017, quando è stato notificato un caso di tetano in un bambino in Sardegna, seguito da un altro caso in una bambina in Piemonte, entrambi mai sottoposti al ciclo primario di vaccinazione. [24]

Questi dati dimostrano la necessità di mantenere alte coperture vaccinali in età infantile, per evitare l'insorgenza di nuovi casi di malattia, che possono risultare anche fatali.

Pertosse

La pertosse è una malattia acuta, causata da *Bordetella pertussis*, caratterizzata da tosse ripetitiva parossistica, con scarsa partecipazione sistemica e linfocitosi.

La pertosse è una patologia a trasmissione aerea ad alta contagiosità, che può dare complicanze e sequele maggiori se contratta nei primi mesi di vita, anche se può manifestarsi a tutte le età. [25]

Nei neonati e lattanti si hanno i quadri sintomatologici più severi, con alti tassi di ospedalizzazione per complicanze, tra cui apnea, convulsioni e ipertensione polmonare, ed un tasso di letalità che può raggiungere l'1%. [26]

Attualmente la pertosse è la malattia infettiva prevenibile con vaccinazione più diffusa nei Paesi ad alto reddito, sebbene sia difficile stimarne l'effettiva portata anche a causa di una sotto-diagnosi dovuta alla sintomatologia molto comune, soprattutto in adolescenti e giovani adulti, che viene spesso non riconosciuta dalla popolazione generale, ed anche dagli operatori sanitari, a causa di una

sintomatologia aspecifica, e perché raramente si ricorre nei casi sospetti alla conferma di laboratorio. [27]

Nell'anno 2015 la pertosse ha causato globalmente oltre 140.000 casi notificati, causando la morte di 89.000 persone solo nell'anno 2008, di cui il oltre il 90% si verifica nel primo anno di vita, e oltre l'80% nel primo trimestre. [28]

In Italia, nel periodo 1996-2009, grazie alle elevate coperture vaccinali, si è registrato un *trend* in calo dei casi di pertosse.

In età infantile la malattia presenta un quadro clinico più grave, e spesso sono i genitori la principale fonte di contagio per i bambini.

I trend di notifiche in Italia per fasce di età nel periodo 1996-2009 sono descritti nella Tabella 2.

A seguito dell'introduzione della vaccinazione per la pertosse nel calendario vaccinale, si è assistito ad una riduzione del 97,6% dei casi notificati ogni anno, passando da 21.000 casi in media ogni anno prima delle vaccinazioni, a mediamente circa 500 casi all'anno nel periodo 2011-2015, come descritto nell'ultimo report dell'ECDC. [29]

Questo importante risultato è stato raggiunto grazie all'impiego di vaccini combinati con componenti antigeniche della pertosse acellulare.

Tuttavia il decadimento dell'immunità, che si verifica nei soggetti vaccinati, fa sì che gli adolescenti e gli adulti rappresentino una possibile fonte di infezione per i non vaccinati, soprattutto per i neonati che per età non hanno ancora iniziato o completato il ciclo primario.

Tabella 2. Trend di notifiche di casi di pertosse in Italia, periodo 1996-2009 (da Gabutti e Rota, 2012, mod.)³¹

	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009
0-14 aa	3739	3227	6689	3623	2446	1730	2453	1195	1236	727	767	696	293	579
15-24 aa	47	41	77	47	37	25	47	27	46	26	30	43	20	29
26-64 aa	84	64	127	70	41	29	41	25	44	36	31	47	19	22
>65 aa	4	6	5	11	1	5	10	5	4	3	2	4	6	4
n.d.	21	27	78	44	16	15	17	12	8	7	5	5	1	4

Per questo motivo, negli ultimi anni il vaccino contro la pertosse è stato raccomandato anche nelle donne in gravidanza, in modo da proteggere il nascituro fin dai primi mesi di vita grazie alla protezione data dagli anticorpi materni.

Poiché la durata dell'immunità, sia quella acquisita da vaccino che quella naturale dovuta alla malattia, contro la pertosse è limitata nel tempo, è importante effettuare i richiami previsti dal calendario vaccinale a tutte le età, compresa quella adulta, per mantenere una sicura ed efficace immunizzazione in ogni epoca della vita, e ridurre le possibili occasioni e fonti di contagio per i soggetti non immunizzati.

Il PNPV attualmente in vigore prevede la somministrazione di una dose *booster* con vaccino pediatrico DTPa-IPV in età pre-scolare, una dose *booster* con vaccino dTpa-IPV in adolescenza, e una dose *booster* con vaccino dTpa ogni 10 anni in età adulta. [27]

Per la protezione dei neonati nei primi mesi di vita, in prima battuta, era stata consigliata dagli esperti la cosiddetta "strategia *cocoon*", che consiste nel somministrare una dose di richiamo a tutti i potenziali contatti stretti del bambino, a iniziare da quelli che fanno parte dello stesso nucleo familiare, e sono conviventi con il nuovo nato. Le recenti raccomandazioni italiane, in linea con quanto affermato dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS), e che si basano su studi scientifici, hanno dimostrato che l'intervento più costo-efficace per prevenire la pertosse nei primi mesi di vita del neonato è la vaccinazione della donna in gravidanza con vaccino dTpa: in questo modo, gli anticorpi

materni vengono trasmessi al feto e proteggeranno il neonato nel periodo finestra dalla nascita al completamento del primo ciclo di vaccinazione. [30]

Come raccomandato nel PNPV, questa vaccinazione è da svolgersi idealmente alla 28a settimana di gestazione, per proteggere il neonato anche in caso di parto pretermine, ma può essere effettuata fino al compimento del parto e, interessando prevalentemente il nascituro, va effettuata ad ogni nuova gravidanza, indipendentemente dall'intervallo di tempo intercorso dall'ultimo richiamo. [31]

POLIOMELITE

La poliomelite può considerarsi debellata nei Paesi occidentali, ma registra ancora alcuni centinaia di casi ogni anno nei Paesi in via di sviluppo, con diverse manifestazioni cliniche, che possono andare dalle forme più lievi, prevalentemente a carico delle vie respiratorie, a quelle gravi paralitiche, spesso letali.

La prognosi della poliomelite è da considerarsi grave, perché attualmente non esistono cure efficaci.

La vaccinazione resta il migliore metodo di prevenzione di questa malattia infettiva, che in caso di contagio può determinare una paralisi flaccida irreversibile, con incidenza maggiore in età infantile.

L'incidenza della poliomelite è stata ridotta drasticamente negli ultimi anni, anche grazie a campagne di vaccinazioni di massa messe in atto in tutti i Paesi del mondo.

A partire dal 1988, l'Organizzazione Mondiale della Sanità ha lanciato la *Global Polio Eradication Initiative*, permettendo l'immunizzazione gratuita in età infantile e riducendo drasticamente i casi di polio, dai 350.000 circa in 125 Paesi del 1988 ai 37 casi del 2016.

Dal 2016 la trasmissione endemica di ceppi selvaggi di poliovirus è stata interrotta in tutti i Paesi tranne Afghanistan, Nigeria e Pakistan, ed è stato ormai considerato eradicato il poliovirus selvaggio di tipo 2. Il poliovirus di tipo 2 è conservato ormai solo nei laboratori, e non è più causa di casi di infezione da poliomelite.

Il 24 ottobre 2019 l'OMS ha dichiarato che anche il poliovirus di tipo 3 è stato eradicato, così come era accaduto già per il poliovirus di tipo 2. Al momento la poliomelite da poliovirus di tipo 1 rimane endemica in Afghanistan e Pakistan, dove rappresenta un'emergenza sanitaria. L'Italia, insieme a tutta la Regione OMS Europa, è stata definita una Regione *polio-free* nel 2002.

In Ucraina, tra giugno e luglio 2015, sono stati notificati 2 casi di poliomielite paralitica, entrambi in età infantile, rispettivamente in un bambino sotto un anno di età e in uno di 4 anni, causati da poliovirus tipo 1 derivato dal virus incluso nel vaccino orale (Opv).

In Italia, grazie alla vaccinazione di massa (obbligatoria dal 1966), l'ultimo caso di poliomielite risale al 1982; nonostante ciò, a maggio 2019 il Ministero della Salute ha diffuso il Piano nazionale di preparazione e di risposta a una epidemia di poliomielite, redatto a seguito della dichiarazione di emergenza di sanità pubblica di rilevanza internazionale, in relazione alla recente diffusione di poliovirus selvaggio emanata dall'OMS.

Il Piano ha il compito di definire, predisporre e coordinare le azioni da intraprendere nell'eventualità di un focolaio epidemico da poliovirus selvaggio o vaccino-derivato, al fine di bloccarne la trasmissione entro 120 giorni dalla conferma del primo caso di infezione.

Altrettanto prioritario è continuare il programma di vaccinazione di massa con IPV (antigene poliovirus inattivato) fino alla sua eradicazione, mantenendo i titoli anticorpali alti nella popolazione immunizzata, per evitare il rischio di importazione e trasmissione di ceppi selvaggi da altri Paesi. [32]

EPATITE B

L'infezione da virus dell'epatite B (HBV) si accompagna nel neonato, nel bambino e nell'adulto a quadri clinici diversi l'uno dall'altro, potendo presentarsi clinicamente da un quadro del tutto asintomatico, a un quadro classico caratterizzato da ittero, febbre, nausea e dolore addominale, a più rari quadri di epatite fulminante, o quadri clinici a carico di tessuti o organi diversi, quali artrite esantema, glomerulonefrite.

L'epatite B è causa di patologia cronica in 257 milioni di persone circa nel mondo. Un contagio precoce aumenta la probabilità di andare incontro a patologia cronica, che arriva a 90% se contratta alla nascita, a 30-50% nei bambini fino a 4 anni di età, per diminuire a 1-10% se contratta successivamente.

Nel 2017, i Paesi dell'Unione europea e dello Spazio Economico Europeo hanno riportato complessivamente 26.907 casi di epatite B, nonostante la maggior parte dei Paesi europei offra gratuitamente la vaccinazione ai nuovi nati.

In Italia, la vaccinazione per i nuovi nati, e per i soggetti al dodicesimo anno di età, è obbligatoria dal 1991, questo ha determinato un drastico decremento dei casi notificati dal 1991 al 2016, soprattutto per i soggetti di età compresa tra i 15 e i 24 anni, con un decremento dell'incidenza dell'86% e della

prevalenza a <1%, risultato importante in quanto l'epatite B è una delle cause principali di cirrosi epatica e cancro del fegato, che si verificano a distanza di almeno 10 anni dall'infezione.

Dal 1 gennaio al 30 giugno 2019 in Italia il Sistema epidemiologico integrato delle epatiti virali (Seieva) acute coordinato dall'Istituto Superiore di Sanità (ISS) ha ricevuto la segnalazione di 80 nuovi casi di epatite B, in particolare un rischio aumentato di contrarre l'infezione è stato segnalato in soggetti sottoposti al rischio chirurgico: negli ultimi 5 anni circa il 10% dei pazienti con epatite B acuta ha riferito di essere stato sottoposto a un intervento chirurgico nei 6 mesi precedenti l'insorgenza dei sintomi.

Nello stesso periodo sono cambiate anche alcune caratteristiche della popolazione esposta in Italia: il 19% delle infezioni acute da HBV ha riguardato soggetti di nazionalità non italiana, provenienti da aree ad alta endemia per HBV, in particolare il 9% era proveniente da Paesi dell'Europa Orientale e il 4,9% dei casi proveniva dall'Africa. [33]

HAEMOPHILUS INFLUENZAE DI TIPO B

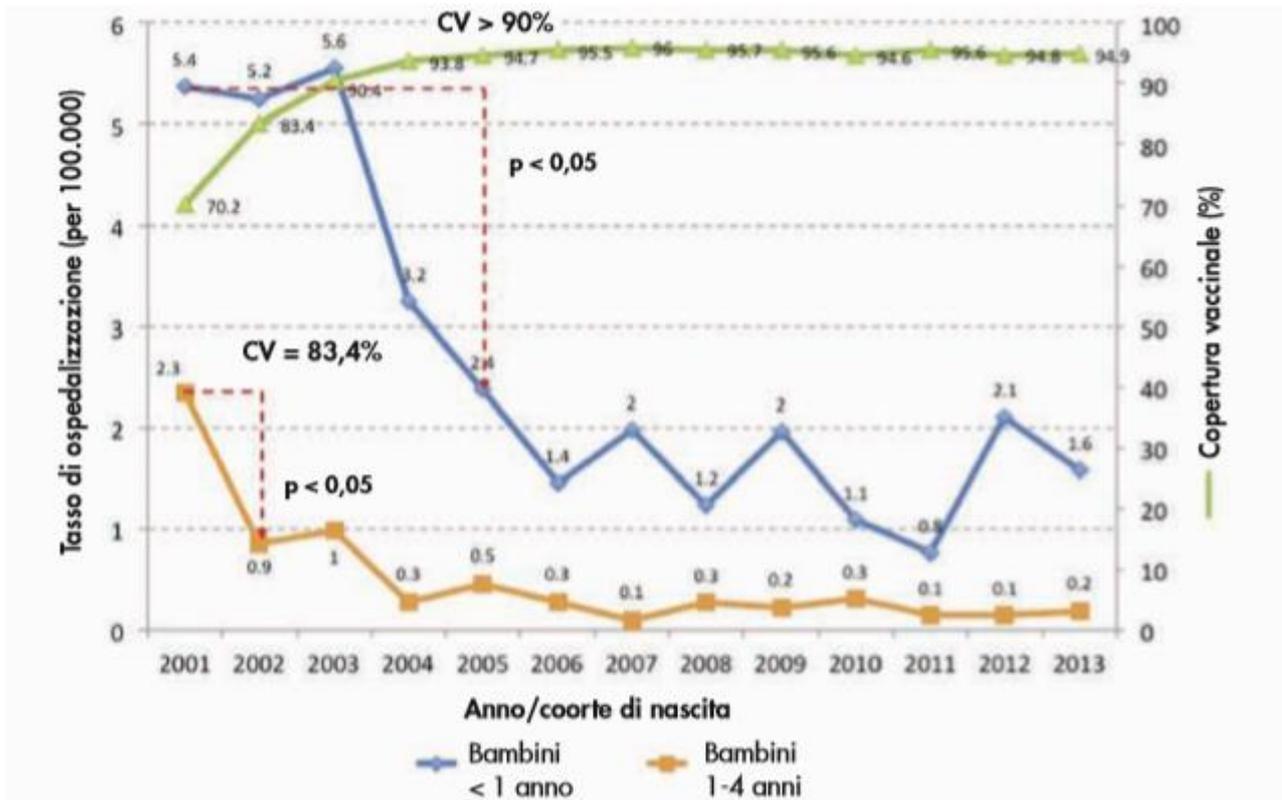
L'infezione da *Haemophilus Influenzae* di tipo B (HiB) si manifesta con quadri clinici gravi ed invasivi quali meningiti, setticemia e polmonite, nonostante ciò la stima dell'incidenza di questa malattia infettiva è difficile perché spesso non viene richiesta una conferma di laboratorio. [34]

Nel periodo compreso tra il 2016 e il 2018 sono stati segnalati 452 casi di malattia invasiva da *Haemophilus Influenzae* in Italia. Nel periodo di riferimento, l'incidenza era compresa tra 0,23 casi/100.000 abitanti nel 2016 e 0,27 casi/100.000 abitanti nel 2018, valore che sebbene in aumento, resta inferiore alla media europea di 0,8 casi /100.000 abitanti del 2017, anno di edizione dell'ultimo report europeo attualmente disponibile.

Questo risultato è stato possibile anche grazie all'introduzione del vaccino esavalente tra le vaccinazioni raccomandate nell'infanzia, permettendo una riduzione dell'incidenza di malattia, in particolar modo nei neonati, del 91,3% rispetto all'epoca pre-vaccinale.

L'immunizzazione attiva dei neonati ha permesso, inoltre, di ridurre la gravità delle manifestazioni di infezione da HiB già nei primi anni dopo l'introduzione della vaccinazione esavalente, più che dimezzando i tassi di ospedalizzazione dovuti a malattie causate da questo agente patogeno, come descritto in un recente studio italiano condotto su bambini di età compresa tra 0 e 4 anni nel periodo 2001-2013. (figura 2)

Figura 2. Tassi di ospedalizzazione per malattia invasiva da *Haemophilus influenzae* nei bambini con età inferiore a 1 anno e nei bambini di 1-4 anni in Italia, periodo 2001-2013. Coperture vaccinali a 24 mesi nello stesso periodo (Fonte: Azzari C. et al. Vaccinazione esavalente: la parola agli esperti. Il medico pediatra 2018;1-24)



Negli ultimi anni, si è assistito in Italia a una riduzione dei tassi di copertura vaccinale per esavalente, in concomitanza all'insorgenza di due gravi casi di forme invasive da Hib in bambini di età inferiore a 2 anni, che confermano e ribadiscono la necessità di effettuare ulteriori sforzi per mantenere alti i tassi di immunizzazione, soprattutto nei primi anni di vita. [35-37]

Lo sviluppo del sistema immunitario dei bambini

Il bambino è capace di rispondere a un antigene già durante la vita fetale, le cellule B e T sono già presenti ed attive a partire dalle 14 settimane di gestazione. [38] La capacità del sistema immunitario di riconoscere gli antigeni di agenti patogeni, come quelli presenti nella composizione dei vaccini, e di determinare un'efficace risposta ad essi, dipende dalla presenza sul linfocita T di specifici recettori, chiamati recettori del linfocita T o TCR; nello stesso modo anche i linfociti B, a loro volta produttori di anticorpi, sono in grado di produrre diverse immunoglobuline.

Durante la vita fetale avviene una rapida e specifica diversificazione, che permette al bambino alla nascita di avere un corredo efficientissimo di anticorpi.

La maturazione del sistema immunitario permette quindi al bambino sano di essere corredato di un'ampia diversificazione di cellule B e T. Quanto più sviluppata sarà la diversificazione, tanto più efficiente sarà la risposta ai diversi tipi di antigeni estranei, a cui il bambino sarà esposto dopo la nascita.

La produzione di miliardi di diversi TCR e di diverse immunoglobuline, conseguenza di questa diversificazione, inizia molto precocemente durante la vita fetale.

In un recente studio, pubblicato da Rechavi . et al., è stato dimostrato come un embrione di sole 12 settimane di vita sia già corredato di linfopoiesi e di una accurata diversificazione dei TCR e delle immunoglobuline. [39]

La diversificazione aumenta notevolmente a partire dalla 12a settimana di vita fetale, per proseguire fino alla 26a settimana di gestazione, permettendo di affermare che il livello di immunoglobuline raggiunto a 26 settimane di vita fetale sia identico a quello di cui è dotato il neonato nato a termine.

Da questo studio possiamo capire che un neonato pre-termine nato a 26 settimane di gravidanza, ha già una diversificazione di TCR tale che gli consente di rispondere adeguatamente a moltissimi antigeni nello stesso momento. Data la grande variabilità di TCR e di immunoglobuline, dalla 26esima settimana di gestazione un neonato potrebbe essere in grado di rispondere anche a 10^9 - 10^{11} antigeni diversi. [39-40]

E' noto da molto tempo quanti linfociti servono per rispondere a uno stimolo antigenico. [41]

Le più recenti evidenze scientifiche, riportate in un articolo di Offitt et al. [42], riportano in dettaglio come il corpo umano sia in grado di reagire a multipli antigeni contemporaneamente, e in particolare a quanti vaccini potrebbe rispondere un neonato, che possedendo 107 cellule B per ogni ml di sangue, ipotizzando che ogni vaccino contenga 1000 epitopi per antigene, potrebbe rispondere a 10.000 vaccini contemporaneamente. [41-43]

Questa stima è molto conservativa, considerando che nel vaccino esavalente per le componenti epatite B, tetano e difterite è contenuto solo 1 antigene per ciascuno e della pertosse solo 2 o 3 antigeni.

Nelle infezioni naturali, il sistema immunitario in contatto con un patogeno, come ad esempio un virus influenzale, un rhinovirus o un virus dell'epatite, risponde contemporaneamente a tutti gli antigeni presenti nel virus in causa, producendo diversi tipi di anticorpi [15]: per l'epatite B, ad esempio, il sistema immunitario risponde producendo anticorpi contro l'antigene di superficie S, contro gli antigeni pre-S, contro il core e contro la polimerasi.

Il ciclo di sviluppo dei vaccini esavalenti

La formulazione di vaccini contenenti componenti antigeniche contro difterite, tetano e pertosse (DTPa), e successivamente anche contro poliomelite, epatite B e *Haemophilus Influenzae* di tipo b è stato un processo lungo e complesso.

In tutte le fasi di produzione delle formulazioni attualmente in commercio, i vaccini vengono sottoposti a test di efficacia e qualità, fino all'ottenimento della composizione definitiva, e grazie ai sistemi di produzione sempre più precisi ed accurati degli ultimi anni, si garantiscono standard di sicurezza ed efficacia molto elevati.

Il ciclo di produzione completo dei preparati esavalenti, che ha una durata media di circa 12 anni, comprende la fase pre-clinica, il rilascio del primo lotto autorizzato e somministrabile, le tre fasi di sviluppo clinico e la registrazione da parte delle agenzie regolatorie.

La produzione dei lotti di vaccino esavalente richiede circa 36 mesi, terminato il ciclo produttivo.

La fase della formulazione richiede in media 12 mesi, durante la quale ogni antigene deve legarsi all'adiuvante in un tempo e in un ordine preciso, per ottenere l'efficacia attesa.

Dopo la fase di produzione, che dura circa 12 mesi, sono effettuati oltre 1000 test individuali che vengono realizzati dai produttori, oltre a questi, i vaccini sono sottoposti ad ulteriori test realizzati dalle autorità sanitarie.

Circa il 70% del tempo complessivo necessario per la produzione di un vaccino esavalente è dedicato ai controlli di qualità, mentre il resto è impiegato nella lavorazione degli antigeni, con oltre 200 metodi analitici, alla loro combinazione con *carrier* o adiuvanti, fino a giungere alla combinazione finale, che rispetta i più alti standard di qualità in termini di efficacia e sicurezza.

Se un lotto di vaccino risulta insufficiente in termini di qualità, ad esempio perché contiene un quantitativo antigenico non idoneo o perché la formulazione risulta instabile, viene bloccato, ritirato e non risulta più utilizzabile.

In questo caso, per recuperare i livelli di produzione perduti, il tempo di produzione potrebbe avere un ritardo che può durare fino a due anni dopo il termine precedentemente stabilito.

I lunghi cicli di produzione impongono tempi di anticipo di circa 3 anni in caso di variazioni dei bisogni e della domanda dei vaccini, per soddisfare adeguatamente le variazioni di richiesta e garantire un quantitativo sufficiente di vaccini disponibili.

La formulazione di vaccini combinati è molto più complessa di una semplice miscela di diversi antigeni, a causa di molteplici fattori, quali la compatibilità fisica degli antigeni in essi contenuti e la loro stabilità, che devono essere stabiliti prioritariamente all'inizio del ciclo di produzione.

Dosi extra di alcuni antigeni somministrate con vaccini combinati potrebbero aumentare il rischio di eventi avversi, ed essere dannosi per la salute delle persone a cui vengono somministrate, quindi anche il quantitativo dei diversi antigeni contenuti nei vaccini combinati deve essere definito e misurato in maniera precisa.

In caso di reazione allergica o evento avverso, infatti, può essere più difficile rispetto ai preparati monovalenti individuare il componente responsabile dell'evento.

La dimostrazione della evidenza clinica è resa più impegnativa, per esempio per la potenziale interferenza degli antigeni contenuti nel preparato vaccinale, che potrebbero dare una reazione diversa da quella attesa e prevedibile per ogni singola componente.

In generale, anche a causa del complesso ciclo di produzione e degli accurati controlli di qualità cui sono sottoposti, i vaccini combinati sono più costosi rispetto ai preparati monovalenti.

L'uso di vaccini combinati, però, risulta nel complesso vantaggioso perchè consente l'introduzione di nuovi antigeni nel programma vaccinale a parità di numero di somministrazioni.

I vaccini combinati migliorano la copertura vaccinale, che consente una migliore e più ampia protezione della popolazione contro le malattie infettive, e diminuisce il costo della gestione della malattia e dell'insorgenza di potenziali epidemie, con costi evitati anche in termine di morbilità, mortalità ed ospedalizzazioni.

L'uso di vaccini combinati su ampia scala, quindi, riduce i costi globali sostenuti dai sistemi sanitari diminuendo il numero di visite necessarie per il raggiungimento della completa copertura vaccinale.

I vantaggi diretti per gli operatori sanitari legati all'utilizzo di questo tipo di preparati sono legati a un miglioramento dell'efficienza della pratica quotidiana, che si traduce in una riduzione delle attività

amministrative, risparmio di tempo e semplificazione nelle procedure di approvvigionamento, stoccaggio e nel mantenimento della catena del freddo.

I vaccini combinati possono inoltre comportare un aumento del livello di sicurezza per il personale sanitario, riducendo i rischi legati alle attività di assistenza e somministrazione, in particolare dovuto a una diminuzione di lesioni da punture d'ago per via del minor numero di iniezioni necessarie.

Con l'utilizzo dei preparati esavalenti, inoltre, è stata riscontrata una migliore accettazione da parte dei genitori della pratica vaccinale: i vaccini combinati potrebbero far risparmiare tempo e ridurre la perdita di produttività, evitando la necessità di ritornare per iniezioni successive.

I vaccini combinati migliorano la *compliance* e la tempestività della vaccinazione, portando a una migliore protezione dalle malattie in un arco di tempo inferiore.

In termini di sicurezza, inoltre, sono possibili meno effetti collaterali locali potenziali, a causa di un minor numero di iniezioni.

L'uso di vaccini combinati ha un diretto vantaggio anche per i bambini vaccinati, riducendo il dolore e il disagio che sarebbe causato da un numero superiore di iniezioni, che sarebbero necessarie in caso si optasse per la scelta di preparati monovalenti.

Il complesso sistema autorizzativo e regolatorio, spesso corredato di profonde differenze tra i diversi Paesi, è un altro fattore che determina un ritardo nei tempi di distribuzione e disponibilità dei preparati vaccinali.

Le autorizzazioni all'importo dei vaccini e alla commercializzazione dei lotti risultano due delle principali motivazioni nel ritardo della distribuzione dei preparati legate a questo aspetto regolatorio. [44,45]

Normativa sull'obbligo vaccinale e passaggio dall'uso di vaccini monovalenti a preparati polivalenti

La scelta di intervenire in modo coatto e organizzato per tutelare la salute pubblica si inseriva in un filone di pensiero, nato in Germania, secondo cui lo Stato ha l'obbligo di tutelare la salute dei cittadini in maniera attiva, per garantire la presenza di lavoratori sani ed attivi. La vaccinazione antivaiolosa fu protagonista del primo provvedimento coattivo ad essere diffuso in Europa all'inizio dell'Ottocento, ma poco dopo l'introduzione della legge, si assistette ad una violenta opposizione in Inghilterra, patria delle dottrine liberali avverse a tutto ciò che, partendo dal potere del governo,

poteva interferire sulle libere scelte dei cittadini, al punto che nel 1898 si arrivò all'abolizione dell'obbligo.

In Italia, l'obbligo di vaccinare contro il vaiolo tutti i nuovi nati è stato sospeso nel 1977 ed abolito nel 1981.

Negli anni tra l'introduzione dell'immunizzazione obbligatoria per il vaiolo e la sua sospensione, furono introdotte altre Leggi che dichiaravano l'obbligatorietà di proteggere i nuovi nati da alcune malattie infettive oggi prevenibili con il vaccino esavalente.

La prima ad essere resa obbligatoria fu la vaccinazione contro la difterite nel 1939, seguita dalla poliomelite nel 1966.

Alcuni anni più tardi, nel 1969 fu dichiarato l'obbligo all'immunizzazione per il tetano e, in epoca più recente, nel 1991 fu la volta dell'epatite B, con l'introduzione del vaccino obbligatorio per tutti i nuovi nati e per gli adolescenti al compimento del 12° anno di vita, con effetti rapidi e positivi in termini di riduzione non solo delle infezioni da HBV, ma anche dei tumori primitivi del fegato. [46] Negli anni successivi l'Italia contribuì anche alla sperimentazione del vaccino antipertosse acellulare, attraverso la partecipazione attiva di 4 Regioni (Piemonte, Veneto, Friuli Venezia Giulia e Puglia).

Nel ventennio compreso tra il 1998 e il 2008 si assistette ad una diminuzione dell'incidenza di malattie infettive, anche grazie alle alte coperture vaccinali raggiunte in breve tempo in quegli anni, e all'emanazione dei primi Piani Nazionali Vaccinali, parallelamente a una maggiore autodeterminazione del paziente-cittadino nelle scelte riguardanti la sua salute, che hanno portato all'emanazione della Legge della Regione Veneto n° 7 del 23 marzo 2007, che trattava il tema della sospensione amministrativa dell'obbligo vaccinale per l'età evolutiva. [47]

Questa Legge promuoveva il rinforzo delle iniziative comunicative e informative verso i cittadini senza più l'obbligo di legge, garantendo un'adesione più consapevole della popolazione generale ai programmi di prevenzione vaccinale, e che in un primo momento sembrò anche ottenere risultati incoraggianti in termini di coperture vaccinali.

La percezione delle vaccinazioni da parte delle popolazioni subì in quegli anni influenze negative, anche a causa di un articolo erroneamente pubblicato sulla rivista scientifica "*The Lancet*" nel 1999 e successivamente ritirato, che riportava i risultati di uno studio inglese che associava la somministrazione del vaccino morbillo-parotite-rosolia e alcune manifestazioni di autismo.

Iniziò così a diffondersi in diversi Paesi una nuova corrente di pensiero, definita anni più tardi come "*vaccine hesitancy*", che metteva in dubbio l'efficacia e la sicurezza dei preparati vaccinali, e si

opponeva alla obbligatorietà di questa pratica di prevenzione, determinando tra il 2010 e il 2014 un crollo generalizzato delle coperture per tutte le vaccinazioni obbligatorie e raccomandate nell'infanzia.

Nel 2017 il Ministro della Salute Beatrice Lorenzin diede l'avvio all'elaborazione del nuovo Piano di Prevenzione Vaccinale (PNPV), che ha determinato l'inserimento formale dei vaccini tra i Livelli Essenziali di Assistenza (LEA), cioè tra quelle prestazioni che devono essere erogate in totale gratuità a tutta la popolazione. [48]

Si ribaltava quindi nuovamente il concetto di superamento degli obblighi vaccinali, prevedendo un'azione coercitiva in riferimento alla frequenza di asili e scuole di infanzia, all'immunizzazione del personale sanitario e prevedendo sanzioni disciplinari ed economiche per i medici dichiaratamente anti-vaccinisti.

A maggio 2017 il Governo italiano approvò il Decreto Legge n. 73/2017, successivamente convertito in Legge 119/2017, che prevedeva l'estensione delle vaccinazioni obbligatorie da un numero di 4 a 10, e prevedeva l'esibizione dei certificati vaccinali all'ammissione scolastica. [49]

Le 10 vaccinazioni rese obbligatorie sono già previste in offerta attiva e gratuita dal calendario vaccinale del Piano Nazionale della Prevenzione Vaccinale 2017-2019, ed incluse nei Livelli Essenziali di Assistenza in quanto prioritarie per la Salute pubblica, in termini di protezione dell'individuo e della comunità.

In particolare, si tratta dei vaccini per l'immunizzazione delle seguenti patologie: difterite, tetano, pertosse, poliomelite, epatite B, *Haemofilus Influenzae* di tipo b, morbillo, parotite, rosolia e varicella.

Grazie all'utilizzo dei vaccini combinati, ad oggi, è possibile immunizzare i bambini per queste 10 patologie tramite l'esecuzione di due sole iniezioni per la somministrazione di preparati vaccinali: il vaccino esavalente e il vaccino morbillo-parotite-rosolia-varicella.

I più recenti dati sulle coperture vaccinali in Italia mostrano una ripresa a partire dall'anno 2015, con un significativo incremento nel 2017, a seguito dell'entrata in vigore dei nuovi obblighi. [50-54]

A tali confortanti risultati hanno probabilmente contribuito diversi fattori, tra cui una miglior informazione e sensibilizzazione del personale sanitario, il forte consenso politico a favore delle vaccinazioni, la pubblicazione di sentenze che hanno categoricamente smentito il rapporto tra vaccini e autismo, e una rapida e netta inversione, sui circuiti web e social, da una netta predominanza di

contatti su siti non scientifici o di anti-vaccinisti, a un ribilanciamento a favore della corretta informazione scientifica.

La necessità di avere a disposizione preparati vaccinali combinati, quindi, è diventata prioritaria ed attuale, per garantire in tempi brevi un'ampia copertura vaccinale verso diverse patologie infettive prevenibili con vaccinazione e per ottimizzare gli aspetti organizzativi, permettendo il completamento del calendario di immunizzazione con un ridotto numero di accessi agli ambulatori vaccinali.

Vaccini combinati esavalenti

I primi vaccini combinati, precursori del vaccino esavalente e utilizzati nei bambini di età inferiore a un anno di vita, erano vaccini bivalenti contenenti l'antigene difterico e quello tetanico (DT o dT), che permettevano dopo l'esecuzione del ciclo primario a 3 dosi, l'immunizzazione verso queste due malattie.

Successivamente, sono stati inclusi gli antigeni della pertosse, che hanno permesso di ottenere i vaccini trivalenti difterite-tetano-pertosse DTwP e DTaP, contenenti rispettivamente la *Bordetella pertussis* inattivata, o componenti antigeniche acellulari della stessa, garantendo una immunizzazione efficace anche per questa patologia.

Negli ultimi 15 anni sono stati resi disponibili sul mercato i vaccini combinati esavalenti, grazie all'aggiunta ai predetti antigeni, di quelli per la poliomielite, l'epatite B e l'*Haemophilus Influenzae* di tipo b.

In Italia, e nella maggior parte del continente europeo, questi preparati sono la tipologia di vaccino più frequentemente utilizzato per garantire un'efficace immunizzazione in età neonatale ed infantile contro le malattie precedentemente citate. [55]

Al momento, in Italia è possibile scegliere per l'immunizzazione dei neonati e dei bambini tra tre preparati vaccinali combinati esavalenti: InfanrixHexa®, in commercio dal 2000; Hexyon®, disponibile dal 2013 e Vaxelis®, autorizzato in epoca più recente.

Di seguito, si descrivono le principali caratteristiche dei prodotti attualmente utilizzabili in Italia.

InfanrixHexa®

Infanrix™ hexa (DTPa-HBV-IPV/Hib, GlaxoSmithKline) è un vaccino combinato esavalente contenente 10 antigeni (tossoidi difterico, tossoidi tetanico, tossina della pertosse [PT], emoagglutinina filamentosa [FHA], pertactina [PRN], antigene di superficie ricombinante dell'epatite B, poliovirus inattivati [IPV] tipi 1, 2 e 3, e *Haemophilus influenzae* type b [Hib] polysaccharide polyribosylribitol phosphate [PRP]). DTPa-HBV-IPV/ Hib fu autorizzato all'uso per la prima volta in Europa nel 2000, ed è stato attualmente autorizzato in almeno 95 Paesi. [56]

Dalla fine del 2012, più di 90 milioni di dosi di DTPa-HBV-IPV/Hib sono state distribuite nel mondo, di cui circa 15 milioni in Italia. Tutti i componenti del vaccino combinato esistono in formulazioni separate per uso in età infantile e adolescenziale, come Infanrix™, Engerix™ B, Poliorix™, ed Hiberix™, rispettivamente, e come componenti di altri vaccini combinati.

DTPa-HBV-IPV/Hib è uno dei pochi vaccini acellulari per la pertosse che contiene PRN, che sembra essere ideterminante nella protezione contro la malattia. [57]

PRN è una proteina di superficie della *Bordetella pertussis*, che presumibilmente facilita l'adesione e la colonizzazione del tratto respiratorio. [58]

Tutti i vaccini contro la pertosse contengono PT ed alcuni FHA (i cosiddetti vaccini anti-pertosse a 1- o 2-componenti), non tutti contengono PRN (vaccini a 3-, 4-, o 5-componenti).

DTPa-HBV-IPV/Hib è indicato per l'immunizzazione primaria o di richiamo di bambini e neonati [56], ed è stata studiata utilizzando le schedule di immunizzazione più comunemente usate per i vaccini esavalenti.

In Italia la schedula utilizzata più frequentemente è quella a 3 dosi a 3,5 ed 11 mesi di vita.

Per quel che riguarda la schedula di somministrazione, come riportato in uno studio pubblicato a gennaio 2017 da Timo Vesikari et al., un ciclo a 2+1 dosi sembra essere quella ottimale, secondo quanto riportato dalle evidenze scientifiche, in particolare da 7 trials clinici, di cui 3 in cui il vaccino esavalente veniva co-somministrato con un altro vaccino, meningococco coniugato sierogruppo C o pneumococco, che hanno permesso ad EMA di definire l'intervallo ottimale di somministrazione delle 3 dosi a 3,5 e 11-12 mesi, come riportato nel riassunto delle caratteristiche del prodotto (RCP) dal 2015. [55]

Nello stesso studio sono riportati i dati di sorveglianza *post-marketing* a 12 anni dall'autorizzazione del vaccino DTPa-HBV-IPV/Hib in Italia.

Iperpiressia dopo vaccinazione è stato l'evento avverso riportato più frequentemente, sia nei trials clinici, sia durante la sorveglianza post marketing, in particolare se il vaccino esavalente veniva somministrato contemporaneamente al vaccino anti-pneumococcico.

Inoltre, sono state ampiamente indagate le preoccupazioni storiche su una potenziale associazione temporale tra il verificarsi di una morte improvvisa inaspettata (SUD) e la vaccinazione con vaccini esavalenti. [59] L'analisi di un gran numero di casi condotta in Italia non è stata in grado di confermare la presenza di un segnale di sicurezza, ma ha rilevato che la forza dei risultati dello studio è stata bassa, a causa del piccolo numero di casi di SUD che si sono verificati. [60] Nel 2003 l'Agenzia Europea per i Medicinali (EMA) ha definitivamente dichiarato l'assenza di un rapporto causa-effetto, e nessuna modifica al profilo di rischio-beneficio dei vaccini esavalenti allora disponibili.

I dati riportati dimostrano la sua sicurezza ed efficacia nel prevenire difterite, tetano, pertosse, epatite B, poliomelite e meningite invasiva da Hib, quando somministrato da solo, o in co-somministrazione con altri vaccini in bambini e neonati, inclusi i nati pre-termine.

L'uso di DTPa-HBV-IPV/Hib in Italia è associato con livelli record di coperture vaccinali e con un sostanziale controllo delle malattie nelle coorti vaccinate.

Hexyon®

Dallo sviluppo clinico internazionale al lancio in Europa e in Italia di questo preparato sono stati effettuati 25 trials clinici in popolazioni di diverse etnie.

Hexyon® ha dimostrato di produrre livelli anticorpali protettivi contro infezioni da difterite, tetano, pertosse, virus dell'epatite B, poliovirus, *Haemophilus Influenzae* di tipo b nei bambini di età compresa tra sei settimane e due anni, a prescindere dalla loro origine etnica. Benchè per i bambini di oltre due anni di età non vi sono dati disponibili, non sussistono elementi a indicare che si possa avere una risposta diversa nei bambini più grandi. [61]

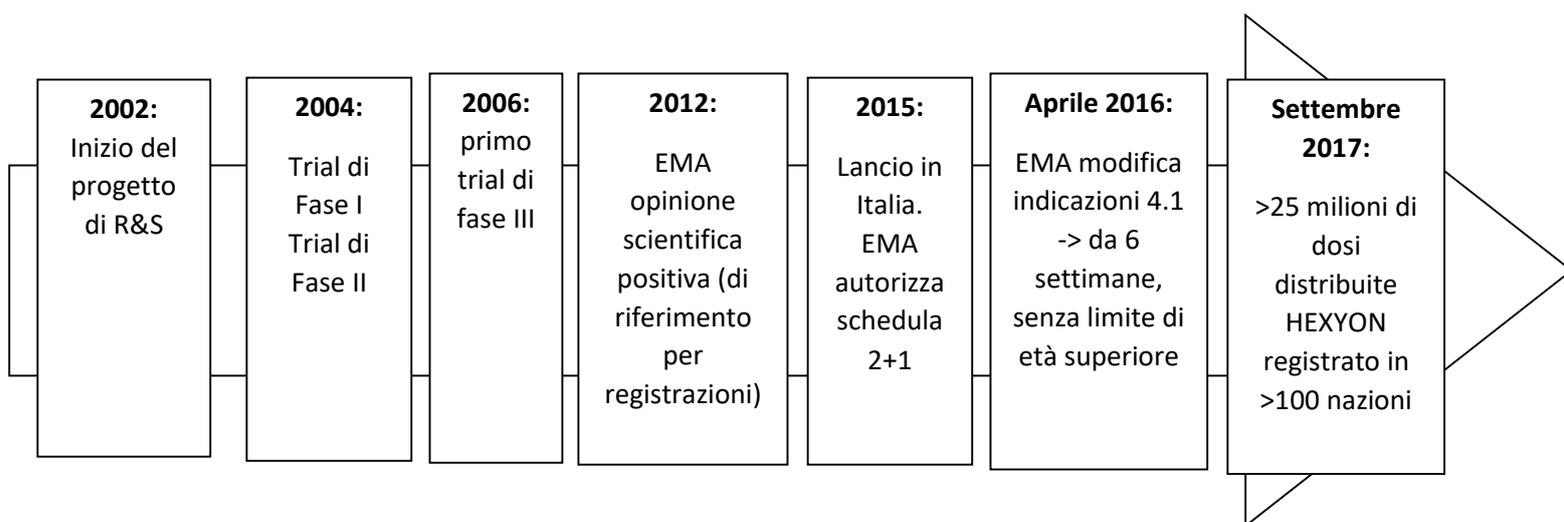
Gli antigeni contenuti in questo preparato, e i loro quantitativi, sono riportati in tabella 3.

In figura 3 sono riportate le principali tappe dello sviluppo della nuova formulazione vaccinale, Hexyon®.

Tabella 3. Antigeni contenuti in Hexion®⁶¹

Antigene	Quantitativo
Tossoide difterico purificato	>20 UI
Tossoide tetanico purificato	>40 UI
Antigeni acellulari della pertosse	
- Tossoide pertussico (PT)	25 µg
- Emoagglutinina filamentosa (FHA)	25 µg
Poliovirus inattivato (IPV)	
Type 1 poliovirus (Mahoney)	40 unità
Type 2 poliovirus (MEF-1)	8 unità
Type 3 poliovirus (Saukett)	32 unità
Antigene epatite B (HBsAg) - Purified recombinant hepatitis B surface antigen	10 µg
PRP Haemophilus Influenzae tipo b	12 µg

Figura 3. Tappe dello sviluppo del vaccino Hexion®



Vaxelis®

Vaxelis® è un vaccino esavalente liquido, pronto all'uso, approvato in Europa per il ciclo primario e la vaccinazione di richiamo di neonati e bambini, dall'età di 6 settimane contro difterite, tetano, pertosse, epatite B, poliomelite e malattie invasive da *Haemophilus Influenzae* di tipo b (Hib).

Il preparato contiene tossoidi di difterite e tetano, 5 antigeni acellulari della pertosse, un antigene ricombinante di superficie dell'epatite B prodotto nel lievito, *Saccharomyces cerevisiae*, poliovirus inattivato e Hib polisaccaridico coniugato alla parte esterna della proteina di membrana di *Neisseria meningitidis*.

In diversi studi clinici, Vaxelis® è risultato altamente immunogenico per tutti i suoi antigeni/tossoidi, quando somministrato in tre differenti schedule.

I livelli primari di sieroprotezione e i tassi di risposta al vaccino con Vaxelis® rispettavano i criteri predefiniti di accettabilità ed erano non inferiori rispetto a quelli raggiunti dagli altri preparati (Infanrix® hexa or Pentacel® plus Recombivax HB®) nei trials clinici condotti su questo preparato. Vaxelis® può essere co-somministrato in sicurezza con diversi tipi di vaccini tipici dell'infanzia. I dati raccolti negli studi sperimentali evidenziano che Vaxelis® ha un profilo di sicurezza simile agli altri preparati disponibili per la vaccinazione esavalente.

In tabella 4 vengono illustrate le principali differenze di caratteristiche e composizione antigenica dei tre preparati vaccinali attualmente disponibili in Italia.

Tabella 4. Caratteristiche e composizione antigenica dei tre preparati vaccinali attualmente disponibili in Italia

	Infanrix Hexa®	Hexion®	Vaxelis®
Autorizzazione	2000	2013	2016
Formulazione	Sospensione di 0.5 mL in siringa luer-lock syringe e Hib da ricostituire	Interamente liquido in siringa (0,5 mL) pre-riempita	Interamente liquido in siringa (0,5 mL) pre-riempita con sistema Luer-lock
Componenti pertosse	PT 25 µg FHA 25 µg PRN 8 µg	PT 25 µg FHA 25 µg	PT 20 µg FHA 20 µg PRN 3 µg FIM 2,3 5 µg
Hep B e cellule di lievito	10 µg Saccharomyces cerevisiae	10 µg Hansenula polymorpha	10 µg Saccharomyces cerevisiae
Hib-coniugato	PRP-TT 10 µg	PRP-TT 12 µg	PRP-OMPC 3 µg
Indicazioni età	Neonati a partire da 6 settimane	Neonati e bambini a partire dalle 6 settimane	Neonati e bambini a partire dalle 6 settimane
Dati disponibili	Profilo di sicurezza ed efficacia fino a 36 mesi di età	Profilo di sicurezza ed immunogenicità fino a 24 mesi di età	Profilo di sicurezza ed immunogenicità fino a 15 mesi di età
Dati sui prematuri	Si (nati dopo 24 settimane)	No	Si (n = 111)
Co-somministrazione	PCV7, PCV10, PCV13, MenC, MenACWY, Rotavirus, MMRV	PCV, MMR, Rotavirus, MenC, MenACWY NO VARICELLA	PCV13, MMRV, Rotavirus, MenC
Validità	3 anni a 2°-8° C	3 anni a 2°-8° C	4 anni a 2°-8° C
Stabilità	Fino a 25°C per 72 ore		Fino a 25°C per 72 ore

RISULTATI

Immunogenicità delle componenti antigeniche contenute nei preparati combinati esavalenti

L'efficacia dei tre preparati attualmente disponibili è sostanzialmente paragonabile, pur nella diversità di composizione delle diverse formulazioni, e garantisce di ottenere un'elevata e duratura protezione contro le sei patologie prevenibili con il vaccino esavalente.

Negli ultimi anni sono stati effettuati alcuni studi clinici che hanno permesso di effettuare un confronto dettagliato sull'immunogenicità dei tre preparati.

Gli studi condotti utilizzando una schedula 2+1, permettono di analizzare uno schema vaccinale molto vicino a quello proposto in Italia, sia per quanto riguarda l'età di inizio del ciclo vaccinale sia per la possibilità di co-somministrazione del vaccino esavalente con altri preparati, quali i vaccini anti-pneumococcico e anti-rotavirus. [62,63]

Nei trial clinici esaminati, sono stati utilizzati dei correlati di sieroprotezione standard prestabiliti per valutare la risposta a ciascun antigene dei tre preparati, in particolare per alcune patologie il raggiungimento di determinati livelli di concentrazione e titoli anticorpali è stato utilizzato come parametro di garanzia dell'effettiva sieroprotezione, ottenuta in risposta alla somministrazione vaccinale.

Per gli antigeni della pertosse, invece, non è possibile la misurazione di un correlato di sieroprotezione, per questo motivo negli studi clinici eseguiti, l'efficacia vaccinale è stata misurata effettuando un confronto tra le concentrazioni di anticorpi specifici prodotti dopo la vaccinazione, che devono risultare superiori rispetto a quelli presenti prima dell'immunizzazione attiva, per poter assicurare una effettiva immunogenicità.

I risultati ottenuti hanno permesso di stabilire per tutti gli antigeni di ciascun preparato esavalente un'elevata immunogenicità, garantendo la sieroprotezione di elevate percentuali di bambini sottoposti a vaccinazione, e dimostrando la sostanziale sovrapponibilità dei tre prodotti per quel che riguarda la risposta anticorpale.

In maggiore dettaglio, le percentuali di sieroprotezione dei bambini vaccinati con preparati esavalenti sono risultate non-inferiori per le concentrazioni anticorpali di tutti e sei i microrganismi contenuti

nel vaccino esavalente, rispetto a quelle riscontrate in bambini immunizzati con preparati monovalenti o formulazioni a minor numero di valenze, quali ad esempio il vaccino difterite-tetano-pertosse DTPa. [3,4]

Per la persistenza anticorpale nel tempo, il *follow up* dei *trials* clinici ha dimostrato il mantenimento di concentrazioni protettive per ciascun anticorpo a distanza di anni, che garantisce un'efficace immunizzazione per difterite, tetano, pertosse e poliomelite fino in epoca pre-scolare, al momento della dose di richiamo con DTPa-IPV, mentre per l'epatite B la sieroprotezione risultava estesa fino all'età pre-adolescenziale, diminuendo anche il potenziale rischio di contagio in adolescenza e nell'età adulta.

I programmi di sorveglianza epidemiologica, da alcuni anni attivi in diversi Paesi europei quali Svezia, Danimarca e Germania, hanno confermato l'*effectiveness* dei preparati esavalenti per alcune malattie, quali la pertosse e l'Hib.

I dati disponibili sono riportati negli RCP dei due preparati utilizzabili da più tempo, Infanrix Hexa® e Hexyon®, e nel prossimo futuro saranno confrontabili anche con quelli relativi al vaccino autorizzato più recentemente, Vaxelis®.

Nei paragrafi successivi saranno illustrati i risultati ottenuti da diversi studi clinici per i 3 preparati in studio, e le principali differenze evidenziate relativamente ad ogni componente antigenica del vaccino esavalente.

Pertosse

Il tossoide della pertosse è presente in tutti i preparati combinati che contengono componenti acellulari (Pa).

Alcune differenze possono essere presenti per le altre componenti antigeniche della *Bordetella pertussis*, in particolare quelle più frequentemente incluse nei preparati vaccinali esavalenti sono: l'emoagglutinina filamentosa (FHA), la pertactina (PRN) e le fimbrie di tipo 2 e 3 (FIM).

Inoltre, le differenze tra i vaccini attualmente utilizzabili, per la componente pertosse non si limitano alla formulazione, combinazione e concentrazione in microgrammi delle singole componenti, ma riguardano anche le modalità di produzione, in particolare i metodi utilizzati per la loro detossificazione e purificazione.

Il contributo di ciascun antigene alla protezione immunitaria per questa patologia non è ancora stato del tutto chiarito, per questo motivo, nel confronto tra i diversi preparati, non ci si può limitare all'analisi del numero di componenti antigenici presenti nelle tre formulazioni. [64]

Imprescindibile è la presenza di PT, contenuto in tutti i vaccini Pa, che garantisce una risposta anticorpale protettiva a seguito della somministrazione del vaccino.

Secondo per importanza è l'FHA, che è l'antigene che mantiene nel tempo una maggiore stabilità genetica, contrariamente a quanto avviene per la PRN, che a seguito dei rapidi mutamenti ha portato alla diffusione di alcuni ceppi pertactino-resistenti.

Il ruolo delle fimbrie nella sieroprotezione del neonato, invece risulta ancora incerto, mentre maggiori evidenze si hanno sul loro contributo nei preparati utilizzati per le dosi *booster* dell'età adulta.

Inoltre, è ormai ampiamente dimostrato come l'immunizzazione passiva, legata alla infezione naturale con la pertosse, sia in grado di garantire una immunizzazione duratura nel tempo per tutte le sue componenti.

Come precedentemente ricordato, non esiste alcun correlato o indicatore sierologico di protezione per la pertosse, ma nonostante ciò, nei *trials* clinici analizzati effettuati sui diversi preparati esavalenti disponibili in commercio, e anche nel confronto con vaccini combinati a minor numero di componenti, si è dimostrato che tutti gli antigeni del vaccino anti-pertosse acellulare presentavano un'elevata immunogenicità, dimostrabile con la presenza di elevati livelli anticorpali rispetto ai quantitativi presenti prima della somministrazione del vaccino. [65,66]

Per le caratteristiche appena descritte, e come ampiamente dimostrato in letteratura scientifica, l'efficace prevenzione e controllo della pertosse sono basati non solo sull'effettuazione di un ciclo primario di vaccinazione nel neonato, ma anche di dosi di richiamo in età infantile, adolescenza e nell'adulto, da effettuare ogni 10 anni, e sul mantenimento delle più elevate coperture vaccinali possibili, indipendentemente dal tipo di vaccino utilizzato e dal numero di componenti in esso contenute.

A dimostrazione di questa evidenza, si può citare l'esempio della Danimarca, Paese che utilizza da oltre 15 anni un vaccino Pa con sola componente PT nel proprio calendario per l'infanzia, e in cui esiste un buon controllo della pertosse e non si sono registrati casi di malattia. [67]

In Svezia, vengono utilizzati vaccini da 1 a 5 componenti per la pertosse, e i risultati del sistema di sorveglianza epidemiologica, attivo nel Paese da 19 anni, dimostrano come essa sia sotto controllo in maniera efficace in tutto il Paese. [68]

Il mantenimento di elevate percentuali di copertura vaccinale, e la disponibilità di un calendario che prevede un numero adeguato di dosi nel ciclo primario in età infantile, e con sufficienti dosi booster negli adulti, restano le principali strategie nel controllo della pertosse, come dichiarato dai principali gruppi di esperti di fama internazionale: il gruppo tecnico sulla pertosse dell'OMS (WHO SAGE *Pertussis Working Group*), l'*American Society of Pediatrics* e come descritto dal CDC nella 12a edizione del *Pink Book* e dall'ultimo WHO *Pertussis Vaccines Position paper* del 2015. [69]

Epatite B

L'antigene di superficie del virus dell'epatite B (HBs), contenuto nei vaccini anti-HBV disponibili attualmente sul mercato, sia monovalenti che combinati, è prodotto in cellule di lievito mediante la tecnica del DNA ricombinante.

I vaccini esavalenti utilizzano le cellule di lievito *Hansenula polymorpha* e *Saccharomyces cerevisia*. Nonostante le differenze nella linea cellulare utilizzata nei processi di produzione dei diversi prodotti, tutti gli antigeni HBs hanno dimostrato di essere altamente immunogeni.

Nel confronto tra i diversi studi clinici registrativi effettuati, sono state ottenute elevate percentuali di sieroprotezione, con un titolo anti-HBs \geq 10 mIU/mL, sia nei bambini vaccinati con vaccini esavalenti, sia in quelli vaccinati con vaccino monovalente anti-epatite B. [56,62]

Nel periodo di *follow up* condotto fino all'età pre-adolescenziale, gli studi clinici hanno riportato valori altamente protettivi per gli anticorpi anti-epatite B, dopo la somministrazione di una dose *challenge*, che permettono di mantenere un'elevata protezione da possibili future infezioni e una efficace memoria a lungo termine. [63,70,71]

Il ciclo primario di vaccinazione effettuato durante il primo anno di vita, anche utilizzando i vaccini esavalenti, inoltre, come ampiamente dimostrato in letteratura, permette di mantenere un'efficace sieroprotezione fino all'età adolescenziale.

Per questo motivo, gli esperti non hanno ritenuto necessario aggiungere ulteriori dosi di richiamo per l'epatite B nella popolazione generale, valutando eventualmente la somministrazione di una dose *booster* in presenza di soggetti a rischio o classificati come *no-responders* (titolo anti-HBs < 10 mIU/mL dopo la somministrazione di un ciclo completo di vaccino). [72,73]

***Haemophilus Influenzae* di tipo b (Hib)**

Il titolo anticorpale IgG contro l'antigene capsulare PRP è stato utilizzato dagli studi clinici registrativi dei preparati vaccinali attualmente in commercio per misurare l'immunogenicità della vaccinazione anti-Hib.

I valori di riferimento attualmente utilizzati per le IgG sono $\geq 0,15$ $\mu\text{g/mL}$ per garantire la protezione a breve termine e ≥ 1 $\mu\text{g/mL}$ per quella a lungo termine.

I livelli di sieroprotezione, valutati attraverso le risposte contro l'antigene PRP di Hib di tipo b, ed utilizzando i valori di riferimento appena descritti, sono risultati elevati nei bambini vaccinati con gli esavalenti attualmente utilizzabili, che sono risultati molto efficaci. [56, 65]

Ulteriore evidenza di questo risultato si ha tramite l'analisi dei dati derivanti dai sistemi di sorveglianza nazionale per l'incidenza dei casi di malattia invasiva da Hib, e permettono di confrontare i *trend* relativi agli anni precedenti e successivi all'introduzione della vaccinazione esavalente in età infantile.

Un sistema di sorveglianza integrato *population-based*, utilizzato in Germania, ha permesso di incrociare le informazioni relative ai ricoveri ospedalieri con quelle sulle diagnosi molecolari di laboratorio e valutare l'impatto della vaccinazione anti-Hib negli anni 1996 e 1998, anni dell'introduzione rispettivamente del vaccino tetravalente e del preparato pentavalente.

I primi dati relativi al biennio 1998-1999 hanno dimostrato come i casi di malattia da Hib nei bambini di età compresa tra 0 e 5 anni fosse passato da 28 a 13,58; nel periodo compreso tra agosto 2000 e dicembre 2004 il sistema di sorveglianza ha permesso di stimare i dati di efficacia del vaccino anti-Hib, che in relazione alle dosi somministrate è risultata essere del 96,7% (IC 95%: 87,7 – 99,1) per il ciclo primario completo, e del 98,5% (IC 95%: 94,5–99,6) per la dose di richiamo, senza differenze significative del vaccino esavalente rispetto ai vaccini combinati tetra e pentavalenti. [74]

In Italia, anche a causa di una sorveglianza attiva basata su analisi di laboratorio implementata in alcune regioni, si è assistito dal 1994 al 1998 ad un *trend* in aumento per l'incidenza di malattia

invasiva causata da Hib nei bambini di età inferiore a 5 anni, con valori che vanno da 2,5 a 4,5 per 100.000 abitanti.

Dopo l'introduzione della vaccinazione universale contro Hib, con schedula 2+1, si è registrata una diminuzione dei tassi di ospedalizzazione per malattia invasiva e un eccellente controllo della malattia. [35,75]

Co-somministrazione con altri vaccini

La co-somministrazione dei vaccini esavalenti con altri preparati vaccinali, secondo le indicazioni fornite dal calendario vaccinale per l'età infantile, non determina variazioni nella sicurezza e nell'immunogenicità degli stessi. [76]

I trials clinici che hanno testato la sicurezza e l'immunogenicità dei tre preparati esavalenti ad oggi disponibili, hanno dimostrato il mantenimento di elevati standard per la schedula 2+1 quando il vaccino esavalente è co-somministrato con il vaccino anti-pneumococcico e anti-rotavirus. [56,65,77]

Studi clinici più recenti hanno ampliato la possibilità di co-somministrazione anche ad altri preparati previsti dal calendario vaccinale in età infantile, quali il vaccino anti-meningococcico coniugato, il vaccino anti-morbillo, parotite e rosolia, e il vaccino anti-varicella.

Le opzioni di co-somministrazione per ogni preparato vaccinale esavalente e le relative indicazioni sono riportate nelle RCP di ciascun prodotto. [61-63]

Secondo quanto indicato nella guida CDC sulle co-somministrazioni, tranne che in caso di esplicite controindicazioni riportate in RCP, in un'unica seduta vaccinale è possibile somministrare tutti i vaccini, senza limitazioni legate al numero, mantenendo l'accortezza di utilizzare per i diversi preparati siti differenti di iniezione. [76,78]

Sicurezza dei vaccini esavalenti

La sicurezza dei preparati vaccinali è garantita dagli elevati controlli effettuati prima dell'immissione in commercio.

Prima del rilascio dell'autorizzazione e dell'introduzione nei programmi di immunizzazione, i vaccini sono sottoposti a un processo di valutazione della sicurezza e dell'efficacia.

Nel periodo *post-marketing*, i processi di produzione sono oggetto di un controllo accurato e continuo e gli eventuali eventi avversi correlabili alla somministrazione del preparato, sono rigorosamente monitorati ed indagati al fine di garantire la massima sicurezza e qualità alla popolazione generale.

L' Agenzia Europea dei Medicinali (EMA) e l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) stabiliscono a livello internazionale precisi standard che devono essere rispettati nelle fasi di produzione dei vaccini.

Nonostante gli altissimi livelli di sicurezza ed efficacia dei vaccini attualmente messi in commercio ed utilizzati per l'immunizzazione dei bambini, come tutti i farmaci, anche i vaccini possono determinare potenziali, per quanto poco frequenti, eventi avversi a seguito della loro somministrazione.

L'evento avverso a una vaccinazione (AEFI: adverse events following immunization) viene definito come "qualsiasi evento clinico avverso che si verifica successivamente alla somministrazione di un vaccino e che non ha necessariamente un rapporto causale con l'uso del vaccino". [79]

I risultati di *follow up* degli studi clinici sui preparati combinati esavalenti hanno descritto la buona tollerabilità di questi vaccini, avvalorati anche dalle evidenze riportate dagli studi di fase IV e dai sistemi di sorveglianza *post marketing*. I risultati delle analisi dei *safety report* sono inclusi nelle RCP di ogni preparato vaccinale esavalente disponibile in commercio. [61-63]

Per tutte le formulazioni, è stata registrata una maggiore incidenza di febbre e sintomi locali in corrispondenza del sito di iniezione (da lieve a moderati, e comunque transitori) rispetto ai preparati combinati con un minor numero di componenti.

Nonostante ciò, l'utilizzo di vaccini combinati esavalenti è comunque preferibile e vantaggioso in termini di sicurezza, in quanto riduce la frequenza totale delle reazioni, sottoponendo il bambino a una iniezione invece che a sei, e analogamente accade per le reazioni sistemiche in caso di co-somministrazione di altri vaccini previsti per l'infanzia. [77,80,81]

L'ultimo report dell'Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA) riporta dati dettagliati sulla sorveglianza *post-marketing* dei vaccini in Italia, che riassume le attività di sorveglianza sui vaccini condotte in Italia nell'anno 2016. [82]

La Rete Nazionale di Farmacovigilanza (RNF) raccoglie le segnalazioni di sospette reazioni avverse a vaccino esavalente, che nel 2016 sono state 1127.

Gli eventi gravi riportati sono stati 188, il 16,7% del totale delle segnalazioni sospette incluse nell’RNF.

Il 75% (845) delle segnalazioni avviene in casi di co-somministrazione dei preparati combinati esavalenti con altri vaccini (il vaccino anti-pneumococcico è tra quelli riportati più frequentemente) tra quelli co-somministrabili secondo le indicazioni del calendario vaccinale.

La percentuale maggiore degli eventi avversi riportati è determinata da reazioni transitorie e di lieve gravità, così come accade per altri preparati vaccinali.

Di seguito, sono riportate le più frequenti reazioni avverse riconducibili alla somministrazione di vaccino esavalente, in ordine decrescente di frequenza.

Secondo quanto riportato nel Rapporto, la *Sudden Infant Death Syndrome* (SIDS) non è correlabile con l’esposizione ai vaccini, e la sua frequenza non viene modificata in caso di avvenuta vaccinazione.

La presentazione di SIDS a breve distanza dalla somministrazione di un preparato vaccinale non implica, quindi, alcun rapporto di causalità.

La Guida alle controindicazioni alle vaccinazioni è un altro valido strumento di consultazione per un utilizzo in sicurezza dei vaccini, incluso quello esavalente, in cui vengono descritte e documentate le reali controindicazioni alla somministrazione dei vaccini e riportate quelle che invece sono da considerarsi false controindicazioni. [83]

Considerazioni pratiche

Il Riassunto delle Caratteristiche del Prodotto: precisazioni sulla terminologia

Gli esperti di diverse società scientifiche del *board* Calendario per la Vita hanno recentemente redatto un documento di chiarimento in cui hanno illustrato in maniera approfondita la terminologia utilizzata negli RCP dei vaccini, che potrebbe essere fonte di interpretazioni errate per il loro utilizzo. [84]

In particolare, sono stati chiariti anche gli aspetti medico-legali delle indicazioni di utilizzo del vaccino, la posologia e la modalità di somministrazione dei preparati vaccinali, le indicazioni sulle caratteristiche delle popolazioni nelle quali sono stati effettuati gli studi di efficacia e sicurezza, i dati disponibili su interazioni con altri farmaci e sulle proprietà farmacodinamiche.

Le informazioni contenute nel documento non vanno confuse con le indicazioni del vaccino.

A titolo di esempio, relativamente all'età di impiego, i vaccini esavalenti hanno come indicazione “a partire dalle 6 settimane di vita”, senza che sia fissato un limite massimo di età per il suo utilizzo.

La dose di antigeni contenuta nel vaccino è considerabile come dose pediatrica, nonostante ciò non sia specificato in scheda tecnica, il suo utilizzo è raccomandato fino all'età di 7 anni.

I vaccini, come gli altri farmaci e preparati biologici, sono testati e studiati in popolazioni che abbiano caratteristiche di età maggiormente simili a quella per cui è previsto il loro utilizzo.

Come esplicitamente riportato nelle indicazioni per l'utilizzo di vaccini esavalenti e anche dall'EMA, nonostante il vaccino abbia studi di sicurezza limitati a una popolazione di bambini di età pari a 36 mesi, ad esempio, non implica l'impossibilità di utilizzo del prodotto in bambini di età superiore.

In alcuni gruppi di popolazione particolari, come ad esempio i bambini nati pre-termine, sebbene non vi siano indicazioni specifiche all'utilizzo del vaccino esavalente, il suo impiego non è controindicato e non esistono limitazioni relative o assolute alla sua somministrabilità, limitandosi la scheda tecnica dei tre vaccini esavalenti ad oggi disponibili ad indicare specifiche precauzioni per i bambini nati molto prematuri.

L'utilizzo “*off-label*” invece, come riportato anche nel Bollettino di Informazione sui Farmaci dell'AIFA, sia di farmaci sia di vaccini, è considerato come qualsiasi uso degli stessi in maniera non conforme a quanto riportato nel Riassunto delle Caratteristiche del Prodotto autorizzato. [85]

Considerando la normativa attualmente in vigore (Art. 3 D.Lgs. 17 febbraio 1998, convertito in Legge 8 aprile 1998), che regola l'uso *off-label* dei medicinali e l'osservanza delle indicazioni terapeutiche autorizzate, si può concludere che tutti e tre i preparati vaccinali esavalenti possono essere utilizzati fino a un'età di 7 anni, e che possono essere utilizzati in bambini nati prematuri. In sostanza, l'utilizzo degli esavalenti nei nati prematuri e in tutti i soggetti fino a 7 anni di età è da considerarsi come impiego “*on-label*”, cioè in maniera conforme a quanto previsto da RCP.

Schedula e posologia specifica

Gli studi condotti sui tre preparati esavalenti somministrati con una schedula 2+1, che prevede la somministrazione di 3 dosi al 3°, 5° e 11°-13° mese di età, hanno riportato risultati sostanzialmente analoghi e dimostrato elevati livelli di sieroprotezione per tutti gli antigeni contenuti nei preparati combinati dei tre prodotti in esame. [63,65]

Per i due vaccini esavalenti da più tempo autorizzati ed utilizzati con una schedula che prevede l'impiego di 2+1dosi è stata dimostrata l'efficacia nella prevenzione delle sei malattie per le quali viene garantita l'immunità, attraverso i risultati ottenuti durante il periodo di follow-up degli studi clinici e dai dati derivanti dall'analisi dei programmi di sorveglianza epidemiologica. [4,61,63]

Età di impiego e recupero degli inadempienti

L'emanazione della legge 131/2017, sulla obbligatorietà delle vaccinazioni dei bambini in età scolare in Italia, ha posto il problema di come fare per recuperare la fascia di popolazione inadempiente, dovendo prevedere una immunizzazione dei bambini in età maggiore rispetto a quanto previsto dal Calendario per la Vita.

Tutti e tre i preparati vaccinali esavalenti disponibili sono somministrabili a tutti i bambini a partire dalle 6 settimane di età e, come descritto in RCP, non è presente alcun limite di età superiore per il loro utilizzo. Gli esperti che hanno redatto il Calendario per la Vita raccomandano per il recupero delle immunizzazioni nei bambini inadempienti l'utilizzo dei vaccini esavalenti fino a 7 anni di età, come è stato ribadito anche dal Ministero della Salute.

Per i richiami nei bambini di età superiore a 7 anni è possibile utilizzare vaccini a dosaggio antigenico ridotto, come avviene nell'immunizzazione degli adulti.

Nel caso di interruzione di qualsiasi ciclo vaccinale, non sarà necessario iniziare nuovamente lo stesso ciclo e somministrare dosi aggiuntive di vaccino.

Le raccomandazioni per gli operatori sanitari prevedono di proporre ai genitori, come prima scelta, la somministrazione del vaccino esavalente, in quanto esso ha il vantaggio di ridurre al minimo il numero delle sedute e il numero delle dosi di vaccino da somministrare e di ridurre al minimo anche i possibili effetti collaterali. [84,86]

Le precedenti raccomandazioni sono in linea con quanto riportato nel position paper sulle vaccinazioni della Società Italiana di Farmacologia (SIF), documento redatto in maniera congiunta con la Società Italiana di Pediatria (SIP), la Società di Igiene Medicina Preventiva e Sanità Pubblica (SITI), la Federazione dei Medici Pediatri di Famiglia (FIMP) e quella dei Medici di Medicina Generale (FIMMG).

Il *position paper*, inoltre, fornisce alcuni dettagli circa la possibilità di vaccinare anche i soggetti che hanno già contratto una delle malattie i cui antigeni sono contenuti nel vaccino esavalente, infatti non sono segnalati eventi avversi in maniera più frequente dopo la vaccinazione dei soggetti già immuni.

Inoltre, viene ribadita la non necessità dell'utilizzo di test sierologici per verificare l'eventuale pregressa immunizzazione, quanto testare la pericolosità dei vaccini in bambini con particolari profili genetici sia del tutto inutile e privo di qualunque evidenza scientifica e valore predittivo.

L'Istituto Superiore di Sanità, raccomanda l'impiego fino all'età di 7 anni dei vaccini contenenti antigeni in concentrazione pediatrica, come gli esavalenti, ed approva i contenuti del precedente documento.

Altre due istituzioni internazionali, l'ECDC e l'OMS raccomandano l'impiego dei vaccini pediatrici, come gli esavalenti, nei bambini di età superiore a 7 anni, in linea con le indicazioni riportate dall'EMA su questa tipologia di vaccini. [87,88]

L' ECDC raccomanda per l'immunizzazione dei bambini mai vaccinati, l'impiego di vaccini esavalenti autorizzati e disponibili in Europa nei bambini fino a 6 anni di età, in tutti quei casi di assenza di documentazione, come ad esempio i minori migranti, nei casi di mancato o incompleto svolgimento della vaccinazione primaria DTP-IPV-Hib, inclusa l'immunizzazione per l'epatite B, in accordo con le specifiche linee guida nazionali. [87]

In definitiva, l'utilizzo dei preparati vaccinali combinati esavalenti è supportato: · dalle evidenze su efficacia e sicurezza degli studi clinici effettuati in epoca pre-marketing condotti nei gruppi di popolazione di età analoga a quella della popolazione in cui è previsto il loro maggiore utilizzo;· dall'esperienza acquisita dall'utilizzo di vaccini combinati con simile formulazione ma minor numero di componenti, come ad esempio i tetravalenti, già studiati e indicati fino ad età superiori (DTPaIPV fino a 12 anni di età);· dagli studi di farmacovigilanza e sorveglianza *post-marketing*;· dalle raccomandazioni di società scientifiche, organizzazioni internazionali e dal Ministero della Salute.

Vaccinazione nei nati pre-termine

Il bambino pre-termine è definito dall'OMS come il bambino nato prima della 37a settimana di gestazione; l'OMS, inoltre, distingue la prematurità in tre livelli: lieve, media e grave in base all'età gestazionale alla nascita. [89]

I bambini pretermine hanno una maggiore probabilità di andare incontro a complicanze di malattia che possono necessitare di ricovero ospedaliero, e quando non immunizzati correttamente, presentano tassi di mortalità e morbilità dovuti a malattie prevenibili con vaccino più alti dei nati a termine, ad esempio per le infezioni pneumococciche o la pertosse. [90]

Nel calendario vaccinale del PNPV non viene fatta alcuna differenza tra nati a termine e prematuri, indicando che tutti i bambini possono essere immunizzati con vaccino esavalente a partire dal 3° mese di vita. [6]

Per le motivazioni sopra riportate, è importante che i bambini pre-termine rispettino il calendario di immunizzazione previsto dal PNPV, secondo la loro età cronologica, senza tenere conto dell'età gestazionale, come anche raccomandato dal *Centers for Disease Control and Prevention* (Atlanta, GA, USA). [90,91]

Una recente revisione della letteratura ha confermato che tutte le vaccinazioni, monovalenti e combinate, danno sufficiente garanzia di protezione quando somministrate nei nati pretermine, con la sola eccezione del vaccino monovalente contro l'epatite B che, quando somministrato alla nascita in nati da madri HBsAg positive, conferisce una risposta immunitaria inferiore e per questo motivo deve essere ripetuto a un mese di vita per ottenere una protezione adeguata e duratura nel tempo.

In uno studio del 1992 era riportato che bambini nati con un peso inferiore ai 2.000 g potevano avere una ridotta risposta al vaccino dell'epatite B se vaccinati alla nascita. [92]

Questa evidenza è stata smentita da numerosi studi condotti in USA, Europa e Asia in epoca più recente, affermando che la risposta al vaccino non è influenzata né dal basso peso alla nascita, né dalla nascita pre-termine, anche quando il vaccino dell'epatite B è somministrato ad un mese di vita. [93-99]

Pertanto, il problema si porrebbe solo per i nati da madre HBsAg positiva con peso inferiore ai 2.000 grammi alla nascita, per cui da calendario vaccinale vigente in Italia è prevista una dose alla nascita, seguita da una seconda dose dopo un mese e, successivamente, come per tutti gli altri bambini, da ulteriori tre dosi a 3, 5,12 mesi utilizzando il vaccino esavalente. (Fig. 4)

I bambini nati pre-termine sono dotati di concentrazioni di anti-HBs sufficienti e protettive al completamento della schedula vaccinale esavalente all'età di 9-12 mesi di vita. [89]

InfanrixHexa® ed Hexyon® hanno dimostrato di essere sicuri ed efficaci, come riportato anche dall'assenza di casi di malattia tra i bambini vaccinati con vaccino esavalente, secondo i risultati della sorveglianza epidemiologica delle malattie invasive da Hib in Toscana negli anni dal 2007 al 2017, periodo in cui i preparati vaccinali sono stati impiegati per l'immunizzazione di tutti nuovi nati, compresi i nati pre-termine. [15]

I tre preparati esavalenti ad oggi disponibili non hanno un'indicazione specifica dell'RCP relativa ai nati pretermine; solamente i due prodotti utilizzati da più tempo, *Infanrix Hexa®* e *Vaxelis®*,

riportano in RCP la presenza di dati clinici relativi alla somministrazione nei prematuri, sebbene su un numero limitato di neonati.

Nella scheda tecnica di Hexyon® non sono presenti dati relativi al suo utilizzo in bambini pre-termine, ma sono stati raccolti dati di *effectiveness* tramite un programma di sorveglianza epidemiologica in Toscana.

Gli RCP dei tre vaccini esavalenti autorizzati riportano tra le avvertenze speciali e precauzioni di impiego le medesime informazioni sui nati “molto pre-termine”, cioè i nati prima della 28a settimana di gestazione e con anamnesi positiva per insufficienza respiratoria. In tutte le schede tecniche è descritta la necessità di monitorare la respirazione di questi bambini, considerando il rischio potenziale di insorgenza di apnea, in ambiente protetto in Ospedale per le 48-72 ore successive alla somministrazione del vaccino. Questo accorgimento non deve divenire motivo di sospensione o rinvio della vaccinazione, poiché il beneficio di un’adeguata immunizzazione è elevato in questo gruppo di neonati. [61,62,63]

Queste precauzioni sono valide per tutti i preparati vaccinali ad indicazione pediatrica somministrabili nei neonati, e per i quali è consentito l’utilizzo nei neonati pre-termine, inclusi i molto prematuri. Pertanto, tutti i vaccini esavalenti possono essere somministrati nei neonati pre-termine, con schedula 2+1 e rispettando le stesse tempistiche dei nati a termine, senza dover prevedere un ritardo nell’immunizzazione.

Vaccinazione nei nati da madre HBsAg positiva

I preparati vaccinali esavalenti ad oggi disponibili riportano in RCP la possibilità di utilizzo nei bambini nati da madri HBsAg positive. [61,62,63]

La schedula di vaccinazione riportata nel PNPV 2017-2019 prevede, in questa particolare categoria di neonati, la somministrazione del vaccino monovalente per l’epatite B alla nascita e a 30 giorni di vita. In questi bambini, la serie vaccinale prosegue con la classica schedula 2+1 prevista per l’esavalente. [9]

Una revisione di studi clinici dimostra come questo schema garantisce la produzione di concentrazioni anticorpali protettive in tutti i bambini, inclusi i nati pre-termine. [100]

La risposta al vaccino per l’epatite B in bambini nati con un peso inferiore ai 2.000 grammi in uno studio del 1992 risultò essere ridotta quando i neonati venivano vaccinati alla nascita. [92]

Successivamente alcuni studi condotti in USA, Europa e Asia hanno dimostrato che né il basso peso alla nascita, né la nascita pretermine interferiscono con la risposta al vaccino [93-95]. In ogni caso innumerevoli studi hanno dimostrato che all'età di un mese invece, tutti i pretermine, indipendentemente dal peso alla nascita, sono in grado di rispondere perfettamente al vaccino dell'epatite B [90, 96-100]. In Italia, il calendario vaccinale attualmente in vigore prevede una dose alla nascita seguita da una dose a distanza di un mese di vaccino anti-HBV e, successivamente, come per tutti gli altri bambini, ulteriori tre dosi a 3, 5,12 mesi di vaccino esavalente. [101]

Risposta al vaccino per l'Haemophilus Infuenzae di tipo B

In letteratura scientifica sono riportati studi condotti negli anni '90 che dimostravano come nei bambini pre-termine, soprattutto se nati prima delle 30 settimane di gestazione, la risposta al vaccino monovalente anti-Hib fosse ridotta dopo le prime somministrazioni, e andasse gradualmente a diminuire al termine del ciclo. [102,103]

Studi successivi hanno ribadito l'importanza di non rimandare la prima somministrazione di vaccino anti-Hib nei prematuri, data la maggiore gravità di manifestazione nei bambini più piccoli, e dato che il livello anticorpale sviluppato, sebbene ridotto rispetto ai nati a termine, era comunque protettivo, senza la necessità di ulteriori successivi interventi. [104]

Omeñaca et al. Hanno dimostrato per Infanrix Hexa® una ridotta risposta anticorpale dei bambini nati pre-termine a Hib, con una efficacia protettiva del 92,5% rispetto alla copertura di 97,8% nei nati a termine, ed all'epatite B con un'efficacia protettiva del 93,4% rispetto al 95,2% dei nati a termine. Questi risultati hanno supportato l'evidenza della necessità di un calendario a 4 dosi, con ultima dose all' 11°-12° mese, nei nati pretermine, così come anche riportato in scheda tecnica, e dato anche il maggior rischio di morbilità e mortalità nei nati pre-termine. [105]

Immunogenicità alla pertosse

In molti studi riportati in letteratura è stata dimostrata una minore risposta al ceppo 3 del poliovirus (IPV) rispetto al polio 1 e 2, mentre il livello di immunogenicità è risultato sempre protettivo per difterite, tetano e pertosse anche nei neonati pre-termine. [61,102,103,106]

Sotto il profilo della sicurezza, per evitare eventi avversi legati a problemi respiratori, quali ad esempio l'apnea a seguito di pianto in concomitanza con l'atto vaccinale, sarebbe buona prassi vaccinare il bambino nato pre-termine in ambiente protetto, e verificando prima l'eventuale presenza

di problemi respiratori o circolatori, quali la bradicardia con desaturazione, per quanto questi eventi non abbiano un grave effetto sul decorso clinico. [107]

Inoltre, i livelli anticorpali sono mantenuti al di sopra dei livelli di protezione riconosciuti anche a lungo termine al completamento del ciclo di vaccinazione primario, nei neonati vaccinati con Hexyon® o con Infanrix Hexa® (descritti nei relativi RCP), per tutti gli antigeni contenuti nei due preparati vaccinali. [61,63]

Intercambiabilità

L'esistenza di diverse formulazioni di vaccino esavalente, contenenti componenti leggermente differenti per i diversi antigeni, spesso gli operatori si interrogano sulle modalità di somministrazione e sull'efficacia del ciclo così completato, in caso il preparato usato per le dosi precedenti non sia disponibile, o sia sconosciuto.

La schedula vaccinale andrebbe completata utilizzando lo stesso preparato per le tre dosi previste [108], nonostante non sia esplicitamente controindicato in scheda tecnica l'utilizzo di un vaccino esavalente diverso da quello utilizzato per le prime dosi per garantire la completa immunizzazione.

In scheda tecnica andrebbe sempre segnalato ogni dato disponibile relativo ad efficacia e sicurezza nel caso di utilizzo di un diverso preparato nel completamento del ciclo primario di vaccinazione. [61,77]

L'unica formulazione che ad oggi riporta queste informazioni in RCP è il vaccino esavalente Hexyon®, che illustra le modalità di impiego e di preparazione.

Inoltre, Infanrix Hexa® presenta anche una diversa modalità di preparazione, essendo suddiviso in due componenti da ricostituire: un flaconcino contenente l'antigene per l'Hib, e una componente liquida in siringa pre-riempita, contenente gli altri 5 antigeni principali.

Questa modalità di presentazione aumenta di circa 5 volte il rischio di errore nella preparazione e allunga i tempi di somministrazione a causa del processo di ricostituzione, come riportato da diversi studi disponibili in letteratura. [109-112]

CONCLUSIONI

Gli studi riportati in letteratura e i trials clinici che hanno portato alla registrazione dei tre preparati di vaccino esavalente attualmente disponibili hanno permesso agli esperti di fornire alcune indicazioni per il loro migliore utilizzo.

L'utilizzo di vaccini combinati esavalenti garantisce un grande vantaggio in termini di sicurezza perché riducendo il numero di somministrazioni, riduce la probabilità di comparsa di eventi avversi a livello locale nel sito di iniezione e di pianto conseguente all'atto vaccinale, oltre a diminuire la possibilità di una immunizzazione incompleta dei bambini a causa di mancati o ritardati accessi agli ambulatori vaccinali.

I tre vaccini attualmente in commercio hanno dimostrato livelli elevati di immunogenicità e sicurezza, e secondo le raccomandazioni fornite dagli esperti, e secondo quanto riportato nel calendario per la vita, possono essere co-somministrati con altri vaccini previsti in calendario, quali il vaccino anti-pneumococcico e il vaccino anti-rotavirus, purchè somministrati in siti differenti.

Nei nati prematuri il vaccino esavalente può essere utilizzato con la stessa schedula vaccinale utilizzata nei nati a termine, senza necessità di posticipare la somministrazione della prima dose a causa di immaturità del sistema immunitario nel garantire una adeguata risposta al vaccino, e utilizzando la stessa schedula a 2+1 dosi.

Per i bambini nati prima della 28esima settimana di gestazione e con insufficienza respiratoria, seguendo le indicazioni riportate in RCP, i bambini andrebbero sempre vaccinati in ambiente protetto.

Due delle formulazioni attualmente in uso sono corredati da dati comprovanti l'elevata immunogenicità anche a lungo termine, per un periodo di *follow up* di 9-11 anni, per l'epatite B in studi clinici pre-commercializzazione, e da dati di *effectiveness* ottenuti tramite la sorveglianza epidemiologica.

Il terzo vaccino potrà ottenere le stesse valutazioni nel prossimo futuro, a causa della sua recente messa in commercio.

I programmi di sorveglianza per la pertosse hanno dimostrato una elevata capacità dei tre preparati nel prevenire questa patologia, inoltre, l'immunizzazione delle donne nel secondo e terzo trimestre di gravidanza è risultata un'altra efficace strategia di prevenzione per questa malattia nei primi mesi di vita del bambino.

Sotto il profilo dell'immunogenicità non ci sono sostanziali differenze tra i tre preparati vaccinali per quel che riguarda la loro composizione e la concentrazione dei diversi antigeni, tuttavia, è buona norma utilizzare sempre lo stesso tipo di vaccino per le tre dosi necessarie al completamento della schedula vaccinale, ed affidarsi a quanto riportato in RCP per eventuali interscambiabilità.

Per quel che riguarda le modalità di utilizzo, quando disponibile, è da preferire la formulazione in siringa pre-riempita, che riduce il rischio di errori nella preparazione del vaccino e, da un punto di vista organizzativo, ha un ulteriore vantaggio legato ai minori tempi di somministrazione.

I preparati vaccinali combinati garantiscono una risposta immunitaria efficace e duratura contro sei malattie (difterite, tetano, pertosse, poliomielite, epatite B e *Haemophilus influenzae* di tipo B), permettendo di ridurre il disagio dei bambini causato da multiple iniezioni e riducendo la probabilità di eventi avversi a livello locale nel periodo immediatamente successivo alla vaccinazione.

Inoltre, i preparati esavalenti possono essere somministrati contemporaneamente con altri vaccini previsti in età infantile, durante la stessa seduta vaccinale, riducendo così gli accessi agli ambulatori e la probabilità di un mancato o incompleto ciclo vaccinale a causa di problemi organizzativi.

L'osservazione post marketing nei dieci anni successivi alla commercializzazione dei vaccini Infanrix Hexa® o Hexyon®, nei bambini prematuri in Italia su oltre 300.000 soggetti non ha registrato per la somministrazione di un ciclo primario con la schedula 2+1 un incremento dei casi di Hib.

Questi dati incoraggianti devono incoraggiare a mantenere alte le percentuali di copertura vaccinale nei bambini e nei neonati, secondo le indicazioni di somministrazione riportate nel Piano Nazionale Prevenzione Vaccinale in vigore in Italia, per mantenere un'efficace protezione contro le malattie prevenibili con vaccino esavalente ed evitare la loro ricomparsa in Italia e in Europa.

BIBLIOGRAFIA:

1. Agenzia Italiana del Farmaco. Vaccinazioni come strumento di sanità pubblica: le conclusioni del Consiglio UE. Sito web: www.aifa.gov.it/content/vaccinazioni-come-strumento-disanit%C3%A0-pubblica-le-conclusioni-del-consiglio-ue. Ultimo accesso: 18/04/2020. Ultimo accesso: 18/04/2020.
2. Skibinski D, Baudner B, Singh M, et al. Combination vaccines. *J Global Infectious Diseases* 2011;3:63.
3. Decker MD. Principles of pediatric combination vaccines and practical issues related to use in clinical practice. *Pediatr Infect Dis J* 2001;20(Suppl 11):S10-8.
4. Maman K, Zöllner Y, Greco D, et al. The value of childhood combination vaccines: from beliefs to evidence. *Hum Vaccin Immunother* 2015;11:2132-41.
5. I vaccini e le vaccinazioni. Documento a cura di Società Italiana di Farmacologia, Società Italiana di Igiene Medicina Preventiva e Sanità Pubblica, Società Italiana di Pediatria, Federazione Italiana Medici di Medicina Generale, Federazione Italiana Medici Pediatri. Sito web: <https://www.fimp.pro/images/vaccini.pdf>. Ultimo accesso: 18/04/2020.
6. Piano Nazionale Prevenzione Vaccinale 2017-2019. P.53. Sito web: <http://www.trovanorme.salute.gov.it/norme/dettaglioAtto?id=58185>. Ultimo accesso: 18/04/2020.
7. Circolare Ministeriale 21 novembre 2018. “Vaccinazioni raccomandate per le donne in età fertile e in gravidanza” Sito web: <http://www.trovanorme.salute.gov.it/norme/renderNormsanPdf?anno=2018&codLeg=66751&parte=1%20&serie=null>. Ultimo accesso: 18/04/2020.
8. Documento Vaccinazioni in gravidanza - proteggila per proteggerli. Sito web: <https://www.aogoi.it/media/5721/documento-vaccini-in-gravidanza-2019.pdf>. Ultimo accesso: 18/04/2020.
9. WHO Report. State of inequality Childhood immunization. 2016. Sito web: <http://www.quotidianosanita.it/allegati/allegato108844.pdf>. Ultimo accesso: 18/04/2020.
10. UNICEF. WHO. Progress and Challenges with Achieving Universal Immunization Coverage: 2016 Estimates of Immunization Coverage. 2016. Sito web: <http://www.quotidianosanita.it/allegati/allegato2614895.pdf>. Ultimo accesso: 18/04/2020.
11. Circolare ministeriale Difterite in Venezuela – Aggiornamento al 21 aprile 2018. Sito web: http://www.salute.gov.it/Malinf_Gestione/23-18.pdf. Ultimo accesso: 18/04/2020.

12. ISS Epicentro. Difterite in Venezuela. Sito web: <https://www.epicentro.iss.it/difterite/aggiornamenti>. Ultimo accesso: 18/04/2020.
13. Diphtheria - Annual Epidemiological Report for 2015. Sito web: https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/documents/AER_for_2015-diphtheria.pdf. Ultimo accesso: 18/04/2020.
14. ECDC. Rapid Risk Assessment: A fatal case of diphtheria in Belgium. Sito web: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/media/en/publications/Publications/RRA-Diphtheria-Belgium.pdf>. Ultimo accesso: 18/04/2020.
15. Azzari C, Ricci S, Lippi F, et al. Vaccinazione esavalente: nuove evidenze scientifiche e falsi miti da sfatare. RIAP 2017;3:1-8.
16. ISS Epicentro. Sito web: <https://www.epicentro.iss.it/difterite/epidemiologia>. Ultimo accesso: 18/04/2020.
17. Istituto Superiore di Sanità Epicentro. Difterite in Italia. Sito web: www.epicentro.iss.it/problemi/difterite/DifteriteItalia2017.asp. Ultimo accesso: 18/04/2020.
18. Zakikhany K, Neal S, Efstratiou A. Emergence and molecular characterisation of non-toxicogenic tox gene-bearing *Corynebacterium diphtheriae* biovar mitis in the United Kingdom, 2003-2012. Euro Surveill 2014;19:20819.
19. Monaco M, Mancini F, Ciervo A, et al. La difterite: è ancora una malattia da sorvegliare? Notiziario dell'Istituto Superiore di Sanità 2015;28:3-8.
20. Istituto Superiore di Sanità Epicentro. Sito web: <https://www.epicentro.iss.it/tetano/epidemiologia-mondo>. Ultimo accesso: 18/04/2020.
21. ECDC. Tetanus, annual epidemiological report for 2015. Sito web: https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/documents/AER_for_2015-tetanus.pdf. Ultimo accesso: 18/04/2020.
22. ECDC. Tetanus Annual Epidemiological Report for 2017, Centro Europeo per la Prevenzione e il Controllo delle Malattie.
23. Filia A, Bella A, Hunolstein C, et al. Tetanus in Italy 2001-2010: a continuing threat in older adults. Vaccine 2014;32:639-44.
24. Istituto Superiore di Sanità. Epicentro. Tetano. Aspetti epidemiologici. In Italia. Sito web: www.epicentro.iss.it/problemi/tetano/EpidItalia.asp. Ultimo accesso: 18/04/2020.
25. CDC Pink Book. Pertussis Chapter. 2012. Sito web: www.cdc.gov/vaccines/pubs/pinkbook/downloads/pert.pdf. Ultimo accesso: 18/04/2020.
26. Stefanelli P, Buttinelli G, Vacca P, et al. Severe pertussis infection in infants less than 6 months of age: clinical manifestations and molecular characterization. Hum Vaccin Immunother 2017;13:1073-7.
27. Gabutti G, Azzari C, Bonanni P, Prato R, Tozzi AE, Zanetti A, Zuccotti G. Pertussis. Hum Vaccin Immunother. 2015;11(1):108-17.
28. World Health Organization. Immunization, vaccines and biological. Pertussis. Sito web: http://www.who.int/immunization/monitoring_surveillance/burden/vpd/surveillance_type/passive/pertussis/en/ Ultimo accesso: 18/04/2020.

29. ECDC. Pertussis, annual epidemiological report for 2015. Sito web: https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/documents/AER_for_2015-pertussis.pdf. Ultimo accesso: 18/04/2020.
30. Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). Updated recommendations for use of tetanus toxoid, reduced diphtheria toxoid, and acellular pertussis vaccine (Tdap) in pregnant women. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2013;62:131-5.
31. Gabutti G, Rota MC. Pertussis: a review of disease epidemiology worldwide and in Italy. *Int J Environ Res Public Health* 2012;9:4626-38.
32. Istituto Superiore di Sanità. Poliomelite in Italia. Sito web: <https://www.epicentro.iss.it/polio/documentazione-italia>. Ultimo accesso: 18/04/2020.
33. Romanò L, Paladini S, Zanetti A. Twenty years of universal vaccination against Hepatitis B in Italy: achievements and challenges. *J Public Health Res* 2012;1:126-9.
34. World Health Organization. Haemophilus influenzae type B. Disease burden. Sito web: www.emro.who.int/health-topics/haemophilus-influenzae-type-b/disease-burden.html. Ultimo accesso: 18/04/2020.
35. Whittaker R, Economopoulou A, Dias J, et al. Epidemiology of invasive Haemophilus influenzae disease, Europe, 2007– 2014. *Emerg Infect Dis* 2017;23:396-404.
36. Martinelli D, Azzari C, Bonanni P, et al. Impact of Haemophilus influenzae type b conjugate vaccination on hospitalization for invasive disease in children fifteen years after its introduction in Italy. *Vaccine* 2017;35:6297-6301.
37. Istituto Superiore Sanità. Dati di sorveglianza delle malattie batteriche invasive aggiornati al 16 novembre 2016. Sito web: www.iss.it/binary/mabi/cont/Report_MBI_20161116_v11.pdf. Ultimo accesso: 18/04/2020.
38. Goldblatt D. Immunisation and the maturation of infant immune responses. *Dev Biol Stand* 1998;95:125-32.
39. Rechavi E, Lev A, Lee YN, et al. Timely and spatially regulated maturation of B and T cell repertoire during human fetal development. *Sci Transl Med* 2015;7:276ra25.
40. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. Cellular and molecular immunology. 8th ed. Philadelphia, PA: WB Saunders Co 2014.
41. Cohn M, Langman RE. The protecton: the unit of humoral immunity selected by evolution. *Immunol Rev* 1990;115:9-147.
42. Offit PA, Quarles J, Gerber MA, et al. Addressing parents' concerns: do multiple vaccines overwhelm or weaken the infant's immune system? *Pediatrics* 2002;109:124-9.
43. Cohn M, Langman RE. The protecton: the unit of humoral immunity selected by evolution. *Immunol Rev* 1990;115:9-147.

44. Vidor E, Soubeyrand B. Manufacturing DTaP-based combination vaccines: industrial challenges around essential public health tools. *Expert review of vaccines* 2016;15:1575-82.
45. Plotkin S, Robinson J, Cunningham G, et al. The complexity and cost of vaccine manufacturing - an overview. *Vaccine* 2017;35:4064-71.
46. The World Health Organization. Immunization coverage. Available from: www.who.int/immunization/monitoring_surveillance/routine/coverage/en/.
47. Signorelli C, Odone A, Cella P, Iannazzo S, D'Ancona F, Guerra R. Infant immunization coverage in Italy (2000-2016). *Ann Ist Super Sanita*. 2017;53(3):231–237. doi:10.4415/ANN_17_03_09
48. Signorelli C, Odone A, Cella P, Iannazzo S. Childhood vaccine coverage in Italy after the new law on mandatory immunization. *Ann Ig*. 2018;30(4 Suppl 1):1–10.49. Decreto Legge n. 73/2017
49. Bozzola E, Spina G, Russo R, et al. Mandatory vaccinations in European countries, undocumented information, false news and the impact on vaccination uptake: the position of the Italian pediatric society. *Ital J Pediatr*. 2018;44(1):67.
50. Burioni R, Odone A, Signorelli C. Lessons from Italy's policy shift on immunization. *Nature*. 2018;555(76-94):30. doi:10.1038/d41586-018-02267-9
51. Signorelli C, Guerra R, Siliquini R, Ricciardi W. Italy's response to vaccine hesitancy: An innovative and cost effective National Immunization Plan based on scientific evidence. *Vaccine*. 2017;35(33):4057–4059. doi:10.1016/j.vaccine.2017.06.011
52. Kennedy J, Michailidou D. Divergent policy responses to increasing vaccine scepticism in southern Europe. *Lancet Infect Dis* 2017; 17: 900
53. Signorelli C, Guerra R, Siliquini R, Ricciardi W. Italy's response to vaccine hesitancy: an innovative and cost effective National Immunization Plan based on scientific evidence. *Vaccine* 2017; 35: 4057–59.
54. Koslap-Petraco M, Judelsohn R. Societal impact of combination vaccines: experiences of physicians, nurses, and parents.. *J Pediatr Health Care*. 2008; 22: 300-309
55. Vesikari T, Silfverdal S, Jordanov E, et al. A randomized, controlled study of DTaP-IPV-HB-PRP-T, a fully liquid hexavalent vaccine, administered in a 3-, 5- and 11- to 12-month schedule. *Pediatr Infect Dis J* 2017;36:87-93.
56. Baldo V, Bonanni P, Castro M, Gabutti G, Franco E, et al. Combined hexavalent diphtheria-tetanus-acellular pertussis-hepatitis B-inactivated poliovirus- Haemophilus influenzae type b

vaccine- Infanrix™ hexa. Twelve years of experience in Italy. *Human Vaccines & Immunotherapeutics* 10:1, 129–137; January 2014.

57.Poolman JT, Hallander HO. Acellular pertussis vaccines and the role of pertactin and fimbriae. *Expert Rev Vaccines* 2007; 6:47-56; PMID:17280478; <http://dx.doi.org/10.1586/14760584.6.1.47>.

58.Bassinat L, Gueirard P, Maitre B, Housset B, Gounon P, Guiso N. Role of adhesins and toxins in invasion of human tracheal epithelial cells by *Bordetella pertussis*. *Infect Immun* 2000; 68:1934-41; PMID:10722585; <http://dx.doi.org/10.1128/IAI.68.4.1934-1941.2000>

59.Kuhnert R, Schlaud M, Poethko-Müller C, Vennemann M, Fleming P, Blair PS, Mitchell E, Thompson J, Hecker H. Reanalyses of case-control studies examining the temporal association between sudden infant death syndrome and vaccination. *Vaccine* 2012; 30:2349-56; PMID:22289512; [http:// dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2012.01.043](http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2012.01.043).

60.Traversa G, Spila-Alegiani S, Bianchi C, Ciofi degli Atti M, Frova L, Massari M, Raschetti R, Salmaso S, Scalia Tomba G; Hera Study Group. Sudden unexpected deaths and vaccinations during the first two years of life in Italy: a case series study. *PLoS One* 2011; 6:e16363; PMID:21298113; <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0016363>.

61.EMA – EPAR Hexyon –summary for the public.Sito web: http://www.ema.europa.eu/docs/it_IT/document_library/EPAR_Summary_for_the_public/human/002796/WC500145761.pdf. Ultimo accesso: 18/04/2020.

62.AIFA. Vaxelis, RCP. Sito web: . Ultimo accesso: 18/04/2020.

63.AIFA. Infanrix hexa, RCP. Sito web: . Ultimo accesso: 18/04/2020

64.Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). Updated recommendations for use of tetanus toxoid, reduced diphtheria toxoid, and acellular pertussis vaccine (Tdap) in pregnant women. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2013;62:131-5.

65. Silfverdal S, Icardi G, Vesikari T, et al. A phase III randomized, double-blind, clinical trial of an investigational hexavalent vaccine given at 2, 4, and 11-12 months. *Vaccine* 2016;34:3810-6.

66.Corsello G. La pertosse: una malattia che si sconfigge con adeguate coperture vaccinali. *RIAP* 2017;3:1-8.

67. Hviid A, Stellfeld M, Andersen P, et al. Impact of routine vaccination with a pertussis toxoid vaccine in Denmark. *Vaccine* 2004;22:3530-4.
68. Thierry-Carstensen B, Dalby T, Stevner M, et al. Experience with monocomponent acellular pertussis combination vaccines for infants, children, adolescents and adults - a review of safety, immunogenicity, efficacy and effectiveness studies and 15 years of field experience. *Vaccine* 2013;31:5178-91.
69. Pertussis surveillance in Sweden. Nineteen-year report. Sito web: www.folkhalsomyndigheten.se/contentassets/65ed8f6dbdab4999bc358fcd9b657e77/pertussis-sweden-nineteen-year-report.pdf. Ultimo accesso: 18/04/2020.
70. Esposito S, Tagliabue C, Bosis S, et al. Hexavalent vaccines for immunization in paediatric age. *Clin Microbiol Infect* 2014;20:76-85.
71. Bialek S, Bower W, Novak R, et al. Persistence of protection against hepatitis B virus infection among adolescents vaccinated with recombinant hepatitis B vaccine beginning at birth a 15-year follow-up study. *Pediatr Infect Dis J* 2008;27:881-5.
72. But DY-K, Lai C-L, Limb W-L, et al. Twenty-two years follow-up of a prospective randomized trial of hepatitis B vaccines without booster dose in children. *Vaccine* 2008;26:6587-91.
73. European Consensus Group on Hepatitis B immunity. Are booster immunisations needed for lifelong hepatitis B immunity? *Lancet* 2000;355:561-5.
74. von Kries R, Kalies H, Schmitt HJ. DTPa(+)/Hib combination vaccines: the German experience. *An Pediatr (Barc)* 2003;58(Suppl 5):22-6. Sito web: www.analesdepediatria.org/en/pdf/13048831/S300. Ultimo accesso: 18/04/2020.
75. Kalies H, Grote V, Siedler A, et al. Effectiveness of hexavalent vaccines against invasive *Haemophilus influenzae* type b disease: Germany's experience after 5 years of licensure. *Vaccine* 2008;26:2545-52.
76. CDC Pink Book. Immunology and vaccine-preventable diseases. Sito web: www.cdc.gov/vaccines/pubs/pinkbook/downloads/genrec.pdf. Ultimo accesso: 18/04/2020.
77. Obando-Pacheco P, Rivero-Calle I, Gómez-Rial J, et al. New perspectives for hexavalent vaccines. *Vaccine* 2017. [http:// dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2017.06.063](http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2017.06.063).
78. CDC Pink Book. General recommendations on immunization. Sito web: www.cdc.gov/vaccines/pubs/pinkbook/downloads/genrec.pdf. Ultimo accesso: 18/04/2020.
79. WHO, HIS, EMP, QSS Causality assessment of adverse event following immunization (AEFI): user manual for the revised WHO classification. 2013.

80. Zepp F, Schmitt H, Cleerbout J, et al. Review of 8 years of experience with Infanrix hexa™ (DTPa-HBV-IPV/Hib hexavalent vaccine). *Expert Rev Vaccines* 2009;8:663-78.
81. Nunes Madhi S. Review of a new fully liquid, hexavalent vaccine: Hexaxim. *Expert Opin Biol Therapy* 2013;13:575-93
82. AIFA. Rapporto sulla sorveglianza postmarketing dei vaccini in Italia 2016. Sito web: www.aifa.gov.it/sites/default/files/Rapporto_Vaccini_2016.pdf. Ultimo accesso: 18/04/2020.
83. Gallo G, Mel R, Ros E, et al. Guida alle controindicazioni alle vaccinazioni. 5a ed. Roma: Istituto Superiore di Sanità 2017.
84. Board Calendario per la Vita. Precisazioni del Board del Calendario per la Vita riguardo alla vaccinazione degli inadempienti all'obbligo vaccinale.
85. AIFA, Ministero della Salute. Bollettino d'informazione sui farmaci: off-label. 2006.
86. Board Calendario per la Vita. Recuperi vaccinali. Indirizzi procedurali inerenti l'applicazione della Legge 119 del 31 luglio 2017 sull'obbligo vaccinale per l'iscrizione a scuola.
87. ECDC. Vaccinations to be offered in the absence of documented evidence of prior vaccination. Sito web: <https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/media/en/publications/Publications/Infectiousdiseases-of-specific-relevance-to-newly-arrived-migrants-in-EUEEA.pdf>. Ultimo accesso: 18/04/2020
88. World Health Organization. Recommendations for interrupted or delayed routine immunization - summary of WHO Position Papers. 2017. Sito web: www.who.int/immunization/policy/Immunization_routine_table3.pdf. Ultimo accesso: 18/04/2020.
89. WHO. Preterm birth. Fact sheet. 2016. Sito web: www.who.int/mediacentre/factsheets/fs363/en/. Ultimo accesso: 18/04/2020.
90. Center for Disease Control and Prevention. Epidemiology and prevention of vaccine-preventable diseases. General recommendations. Invalid contraindications to vaccination. Preterm birth. Sito web: <https://www.cdc.gov/vaccines/pubs/pinkbook/genrec.html>. Ultimo accesso: 18/04/2020.
91. Crawford NW, Buttery JP. Preterm infants immunization. *Pediatr Child Health* 2010;20:297-301.
92. Lau YL, Tam AY, Ng KW, et al. Response of preterm infants to hepatitis B vaccine. *J Pediatr* 1992;121:962-5.
93. Patel DM, Butler J, Feldman S, et al. Immunogenicity of hepatitis B vaccine in healthy very low birth weight infants. *J Pediatr* 1997;131:641-3.
94. Losonsky GA, Wasserman SS, Stephens I, et al. Hepatitis B vaccination of premature infants: a reassessment of current recommendations for delayed immunization. *Pediatrics* 1999;103.

95. Saari TN and Committee on Infectious Diseases. American Academy of Pediatrics. Immunization of preterm and low birth weight infants. *Pediatrics* 2003;112:193-8.
96. Center for Disease Control and Prevention. Epidemiology and prevention of vaccine-preventable diseases. General recommendations. Invalid contraindications to vaccination. Preterm birth. Sito web: <https://www.cdc.gov/vaccines/pubs/pinkbook/genrec.html> Ultimo accesso: 18/04/2020.
97. Blondheim O, Bader D, Abend M, et al. Immunogenicity of hepatitis B vaccine in preterm infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 1998;79:F206-F208.
98. Belloni C, Chirico G, Pistorio A, et al. Immunogenicity of hepatitis B vaccine in term and preterm infants. *Acta Paediatr* 1998;87:336-8.
99. Golebiowska M, Kardas-Sobantka D, Chlebna-Sokol D, et al. Hepatitis B vaccination in preterm infants. *Eur J Pediatr* 1999;158:293-7.
100. Esposito S, Serra D, Gualtieri L, et al. Vaccines and preterm neonates: why, when and with what. *Early Human Development* 2009;85:S43-5.
101. Azzari C et al vaccini biblio 21
102. Munoz A, Salvador A, Brodsky NL, et al. Antibody response of low birth weight infants to Haemophilus influenzae type b polyribosylribitol phosphate-outer membrane protein conjugate vaccine. *Pediatrics* 1995;96:216-9.
103. Kristensen K, Gyhrs A, Lausen B, et al. Antibody response to Haemophilus influenzae type b capsular polysaccharide conjugated to tetanus toxoid in preterm infants. *Pediatr Infect Dis J* 1996;15:525-9.
104. Kirmani KI, Lofthus G, Pichichero ME, et al. Seven-year follow-up of vaccine response in extremely premature infants. *Pediatrics* 2002;109:498-504.
105. Omeñaca F, Garcia-Sicilia J, García-Corbeira P, et al. Response of preterm newborns to immunization with a hexavalent diphtheria-tetanus acellular pertussis-hepatitis B virus-inactivated polio and Haemophilus influenzae type b vaccine: first experiences and solutions to a serious and sensitive issue. *Pediatrics* 2005;116:1292-8.
106. D'Angio CT, Maniscalco WM, Pichichero ME. Immunologic response of extremely premature infants to tetanus, Haemophilus influenzae and polio immunizations. *Pediatrics* 1995;96:18-22.
107. Società Italiana di Pediatria, Società Italiana di Neonatologia. Chiarimenti circa la schedula del vaccino esavalente Infanrix Hexa nei lattanti nati prematuri. Sito web: <https://www.sip.it/wp-content/uploads/2016/03/Chiarimenti-su-vaccino-esavalente-e-prematuri-1.pdf>. Ultimo accesso: 18/04/2020.
108. Greenberg D, Feldman S. Vaccine interchangeability. *Clin Pediatr* 2003;42:93-9.
109. Kumar G, Padhiar A, Carroll S, et al. Estimating the cost impact of switching from a vial to a pre-filled syringe mode of administration for the DTaA-IPV-Hib '5-In-1' vaccine in infants. *Value in Health* 2013;16:A345.

110. Wiedenmayer K, Weiss S, Chattopadhyay C, et al. Simplifying paediatric immunization with a fully liquid DTPHepB-Hib combination vaccine: evidence from a comparative time-motion study in India. *Vaccine* 2009;27:655-9.
111. Lafuma A, Mara Y. Comparison of the time to prepare contrast media injection in CT scan exam with prefilled syringes and bottles in 7 European countries. *Value in Health* 2009;12:A254.
112. De Coster I, Fournie X, Faure C, et al. Assessment of preparation time with fully-liquid versus non-fully liquid paediatric hexavalent vaccines. A time and motion study. *Vaccine* 2015;33:3976-82.