



ISTITUTO SUPERIORE DI SANITA'

**Progetto Pertosse 1992-1994
Studio clinico controllato sull'efficacia
dei vaccini antipertosse in Italia**

Rapporto finale a cura di
S. Salmaso, P. Mastrantonio
e M. L. Ciofi degli Atti

ISSN 1123 -3117

Rapporti ISTISAN

96/23

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITA'

**Progetto Pertosse (1992-1994)
Studio clinico controllato sull'efficacia
dei vaccini antipertosse in Italia**

Rapporto finale a cura di
Stefania Salmaso (a), Paola Mastrantonio (b)
e Marta Luisa Ciofi degli Atti (a)

*(a) Laboratorio di Epidemiologia e Biostatistica
(b) Laboratorio di Batteriologia e Micologia Medica*

ISSN 1123-3117

Rapporti ISTISAN

96/23

Istituto Superiore di Sanità

Progetto Pertosse (1992-1994). Studio clinico controllato sull'efficacia dei vaccini antipertosse in Italia.

Rapporto finale a cura di Stefania Salmaso, Paola Mastrantonio e Marta Luisa Ciofi degli Atti
1996, 34 p. Rapporti ISTISAN 96/23

Dal settembre 1992 al settembre 1993 una popolazione di bambini è stata arruolata per partecipare ad uno studio clinico randomizzato in doppio cieco su sicurezza, immunogenicità ed efficacia di tre vaccini antidifterite-tetano-pertosse: due acellulari (DTaP), prodotti rispettivamente da Chiron-Biocrine (CB) e SmithKline-Beecham (SB), ed uno a cellule intere (DTP) prodotto da Connaught (CL). Entrambi i vaccini DTaP contenevano tossina pertussica (PT), emoaagglutinina filamentosa (FHA) e pertactina (PRN). La PT contenuta nel DTaP/CB era detossificata geneticamente, mentre quella del DTaP/SB chimicamente. I bambini arruolati venivano vaccinati a 2-4-6 mesi con 3 dosi di uno dei prodotti antipertosse o con un vaccino DT, nelle proporzioni relative di 3:3:3:1. Sono stati arruolati 15.601 bambini, inclusi nell'analisi di sicurezza dei vaccini: 1.572 nell'analisi di immunogenicità e 14.751 nell'analisi di efficacia. Le reazioni collaterali locali e sistemiche erano significativamente più frequenti dopo vaccinazione con DTP, mentre la reatogenicità dei vaccini DTaP era sovrapponibile a quella del DT. Entrambi i vaccini DTaP hanno indotto risposte anticorpali migliori del vaccino DTP. Durante un follow-up medio di 17 mesi, l'efficacia di entrambi i vaccini DTaP era dell'84%, mentre quella del DTP era del 36%.

Parole chiave: Trial clinico, Vaccini antipertosse acellulari

Istituto Superiore di Sanità

Pertussis Project (1992-1994). Randomized clinical trial on the efficacy of pertussis vaccines in Italy.

Final report edited by Stefania Salmaso, Paola Mastrantonio and Marta Luisa Ciofi degli Atti
1996, 34 p. Rapporti ISTISAN 96/23 (in Italian)

From September 1992 to September 1993, infants were randomized to receive, double-blinded, one of two acellular pertussis vaccines from Biocrine (CB) and SmithKline Beecham (SB) with diphtheria and tetanus toxoids (DTaP), Connaught (CL) whole-cell DTP or with DT in the relative proportions 3:3:3:1 at 2, 4 and 6 months of age. Both DTaP vaccines contain Pertussis Toxin (PT), Filamentous Hemagglutinin (FHA) and Pertactin (PRN). DTaP CB contained genetically detoxified PT; the SB DTaP contained chemically detoxified PT. 15,601 children were enrolled and included in the analysis of vaccine safety, 14,751 children in the analysis of efficacy, and 1,572 children in the analysis of immunogenicity. Over an average of 17 months of follow-up, the efficacy of each DTaP vaccine was 84%; the efficacy of DTP was 36%. Both DTaP elicited stronger antibody responses than the whole-cell DTP. Local and systemic events after vaccination were significantly more frequent in the whole-cell arm, while frequencies of side effects in the two DTaP groups were similar to those in the DT group.

Key words: Acellular pertussis vaccines, Clinical trial

Antonella Lattanzi ha curato la preparazione del testo con la collaborazione di Stefania Giannitelli.

INDICE

| | |
|---|-----------|
| Introduzione | pag. 1 |
| 1. Il Progetto Pertosse | 3 |
| 1.1 Vaccini | 3 |
| 1.2 Obiettivi | 5 |
| 1.3 Disegno e dimensione dello studio | 5 |
| 1.4 Valutazione etica | 6 |
| 1.5 Approvazioni formali | 6 |
| 2. Organizzazione generale del Progetto | 7 |
| 2.1 Arruolamento dei bambini | 7 |
| 2.1.1 Informazione dei genitori | 7 |
| 2.1.2 Criteri di elegibilità | 8 |
| 2.1.3 Calendario vaccinale | 9 |
| 2.2 Flusso dei dati | 10 |
| 2.3 Attività di monitoraggio clinico e supervisione | 11 |
| 3. Valutazione di sicurezza dei vaccini | 13 |
| 3.1 Metodo di rilevazione dei dati | 13 |
| 3.2 Validazione dei dati di sorveglianza degli effetti collaterali comuni | 14 |
| 3.3 Risultati | 14 |
| 4. Valutazione di immunogenicità dei vaccini | 19 |
| 4.1 Metodi | 19 |
| 4.2 Risultati | 20 |
| 5. Valutazione di efficacia clinica dei vaccini | 23 |
| 5.1 Metodi | 23 |
| 5.1.1 Sorveglianza della pertosse | 23 |
| 5.1.2 Diagnosi di laboratorio di infezione da <i>B. pertussis</i> | 23 |
| 5.1.3 Definizione di caso | 24 |
| 5.1.4 Popolazione | 25 |
| 5.1.5 Calcolo del periodo di follow-up | 25 |
| 5.1.6 Terapia con macrolidi | 26 |
| 5.1.7 Metodi statistici | 26 |
| 5.2 Risultati | 26 |
| Conclusioni | 32 |
| Bibliografia | 33 |
| Allegato 1 Diario per la sorveglianza degli effetti collaterali comuni | 34 |

PARTECIPANTI AL PROGETTO PERTOSSE

Laboratorio di Epidemiologia e Biostatistica, Istituto Superiore di Sanità

D. Greco, S. Salmaso, A.E. Tozzi, M. Ciofi degli Atti, P. Panei, A. Anemona, S. Luzi, G. Bellomi, F. Cobianchi, G. Scuderi, F.R. Meduri, G. Cangarella, M. Kanieff, M. Piscitelli, C. D'Anna

Laboratorio di Batteriologia e Micologia Medica, Istituto Superiore di Sanità

P. Mastrantonio, M. Giuliano, P. Stefanelli, M. Bottone, T. Sofia, P. Spigaglia

National Institute of Allergy and Infectious Diseases, National Institutes of Health, USA

S. Wassilak, D. Klein

Università di Palermo

A. Chiarini, A. Giammanco, M. Maggio, S. Taormina, M. Genovese, M.S. Cascino

Regione Veneto

P. Ferraro, P. Dal Lago, E. Silvestri, A. Bin, M. Menchelli, L. De Marzi, E. Giraldo, L. Robino, S. Cinquetti, F. Stocco

Regione Friuli-Venezia Giulia

G. Rinaldi, N. Coppola, P. Materassi, M. Bizzotto, G. Tarabini Castellani, F. Basso, A. Muran

Regione Puglia

S. Barbuti, P. Lopalco, M. Quarto, P. D'Orazio, A. Sanguedolce, C. Germinario, V. Vavallo, A. Bellisario

Regione Piemonte

A. Moiraghi, A. Barale, S. Di Tommaso, S. Malaspina, C. Moiraghi, E. Vasile

Assistenti Sanitarie

Regione Piemonte

A. Masera, S. Milani, R. Moretto, A. Tarella, L. Ambrosio, D.A. Martina, G. Bertero, T. Criveller, C. Bonon, G. Zanon, M. Cedroni, B. Perron Cabus, G. Burdisso, R. Manzino, A. Novella, G. Albera, G. Bignoli, F. Barberi, M.L. Broggio, G. De Ambrosi, L. Rapallino, E. Brizio, S. Spinardi, F. Rosa, M.L. Taricco, S. Varetto, P. Obbia, M. Astegiano, M. Lamberto, A. Cravero, G. Favole, P. Bussolino, P. Ferrero, L. Oberto

Regione Veneto

R. Da Rold, M.R. Zucchetto, J.E. Van Triet, P. Dalla Costa, T. Roan, M.G. Bailo, D. Pegoraro, G. Bragagnolo, A. Cason, N. Marchioretto, B. Pozzato, E. D'Avanzo, L. Meneghin, G. Ceccato, I. Bellò, D. Ceron, M. Bristot, G. Pivato, G. Borin, N. Grandin, A. Marchesin, L. Vettori, G. Michelotti, E. Boscolo, G. Giraldo, R. Zennaro, M.G. Bisson, L. Cortese, M. Gava, C. Garzaro, R. Spagnolo, F. Nicolasi, C. Nicolasi, E. Marengi, L.E. Braida, M.C. Deiana, F. Varotto, M.A. Cecchella, F. Schiavo, I. Carnovelli, M.T. Cenzato, E. Nami, M. Marchetto, C. Dusini, M. Girelli, P. Arcangeli, L. Grigoli, F. Pasetto, W. Lepre, M. Cremonese, G. Boato, A.R. Franzin, A. Presotto

Regione Friuli-Venezia Giulia

P. Baldassi, A. Broccardo, A. Peciar, L. Galussi, P. Meneghin, E. Sardo, D. Gurisatti, S. Moschion, A.M. Londero, G. Pittolo, M. Mio, R. D'Odorico, A.M. Dose, G. Gandolfo, M.G. Battistig, M. Zanolla, M. Cimatoribus, G. Canciani, M. Gerardi, P. Zava

Regione Puglia

T. Buttari, S. Broccardo, S. Fuzio, M. Troiano, A. Serafino, M. Diasparra, A. Fiore, L. Sallustio, C. Indrio, G. Molitemi, C. Montemurro, A. Bisceglie, F. Cipriani, C. Ruffo, A. Rubini, L. Minervini, C. Nardomarino, R. Morelli, C. Stornaiuolo, F. De Meo, A. Rutigliano, H.G. Kloosterhuis, I. Capozzi, R.A. Nerilli, G. Finazzi, M. Giotta, L. Lorenzo, S. Colopi, M. Posi, A. Coluccia, B. Cataldi, R. Piccinonno, E. Cistone, B. Santoro, R. Verardi, C. Zurlo, L. Brancale

INTRODUZIONE

In Italia, la sorveglianza della pertosse è basata sui dati generati dal sistema di notifica obbligatoria delle malattie infettive, e la diagnosi di pertosse è quasi esclusivamente clinica. L'accertamento batteriologico dei casi di pertosse identificati non viene praticato di routine, e la maggior parte dei laboratori clinici non esegue la ricerca culturale di *Bordetella pertussis*.

L'incidenza della pertosse è descritta in Figura 1 dove è illustrato il numero annuale di casi di pertosse notificati al Ministero della Sanità negli anni dal 1971 al 1994. La malattia presenta un evidente andamento ciclico, con picchi di maggiore frequenza ogni 3-5 anni. Durante gli anni non epidemici il numero di notifiche è stato in media di 7.000, mentre durante l'ultima epidemia di grandi dimensioni, nel 1987, sono stati notificati circa 32.000 casi. Recenti indagini hanno inoltre permesso di stimare che il 25% dei bambini italiani contrae la pertosse entro i primi 5 anni di vita (1). Una indagine sierologica condotta su un campione di sieri prelevati nel 1988 (anno successivo all'ultima epidemia) ha dimostrato che nella popolazione generale all'età di 19 anni più del 90% dei soggetti saggiati aveva anticorpi contro *B. pertussis* (2).

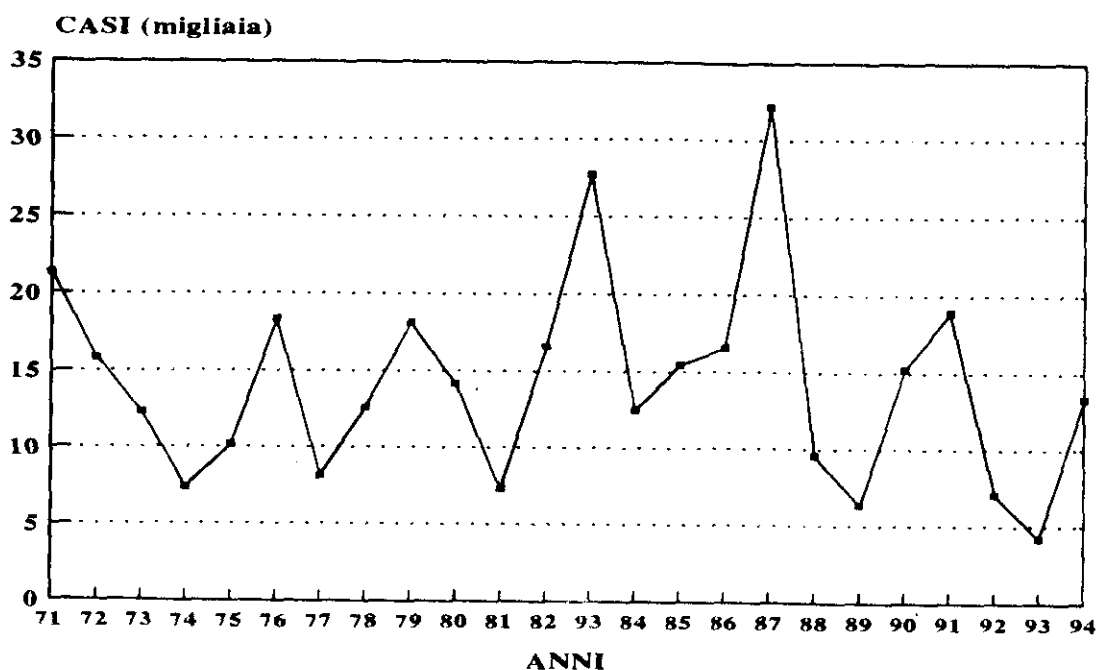


Figura 1. - Trend della pertosse in Italia, 1971-1994

In Italia la vaccinazione antipertosse è facoltativa, e, vista anche la differente offerta nelle diverse regioni, la copertura vaccinale varia molto a seconda della zona di residenza e dell'anno di nascita.

Uno studio effettuato nel 1992 in 7 regioni italiane ha rilevato che la proporzione di bambini vaccinati entro i primi due anni di vita varia dal 12% nella provincia di Napoli al 79% in Lombardia (3). Un altro studio descrittivo in cui erano stati utilizzati vari indicatori, aveva prodotto una stima della copertura vaccinale nazionale media dei bambini nei primi cinque anni di vita pari a circa 40% (1). Una delle ragioni principali della scarsa copertura vaccinale è il timore, sia da parte dei medici che da parte dei genitori, degli effetti collaterali del vaccino antipertosse tradizionale (4).

1. IL PROGETTO PERTOSSE

Per superare il problema degli effetti collaterali del vaccino tradizionale, fin dagli anni '70 erano iniziate ricerche per la realizzazione di nuovi vaccini antipertosse, detti acellulari perchè composti unicamente da alcuni antigeni della *B. pertussis* anzichè dell'intera cellula batterica. Numerosi studi hanno dimostrato la sicurezza e l'immunogenicità di alcuni di questi vaccini (5, 6), tuttavia fino all'epoca di completamento del presente studio mancavano chiare indicazioni circa la loro efficacia clinica nel prevenire la malattia. Del resto anche per il vaccino di tipo tradizionale mancavano dati aggiornati che indicassero con precisione l'efficacia clinica della vaccinazione. Le stime di efficacia più recenti sono state ottenute in base alla diminuzione della frequenza della pertosse osservata nei paesi in cui la vaccinazione veniva somministrata estesamente ai nuovi nati (7).

Data la rilevanza internazionale del problema, nel 1991 il National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID) dei National Institutes of Health (NIH) statunitensi avviarono studi per la valutazione di sicurezza ed immunogenicità di tredici vaccini acellulari di diversa composizione (8) e si dichiararono disponibili a finanziare studi volti a dimostrare il grado di protezione contro la pertosse conferito da alcuni di questi vaccini acellulari, sia in assoluto che in confronto al vaccino tradizionale. Fu quindi promossa una selezione internazionale di tali proposte di studio. Al fine di valutare l'opportunità e la fattibilità di un simile studio in Italia, l'Istituto Superiore di Sanità (ISS) italiano, organo tecnico-scientifico del Servizio Sanitario Nazionale, effettuò una serie di indagini i cui risultati vennero utilizzati per l'elaborazione della proposta di studio (9). Il protocollo di studio italiano prevedeva una valutazione di sicurezza, immunogenicità ed efficacia di due vaccini antipertosse acellulari e di un vaccino antipertosse tradizionale. La proposta Italiana fu accolta per il finanziamento, insieme ad una analoga svedese, ed il Progetto Pertosse (PP) è iniziato nel 1992.

1.1 Vaccini

Sono stati utilizzati due vaccini anti-difterite-tetano-pertosse acellulari (DTaP) prodotti da Chiron Biocine (CB) e SmithKline Beecham (SB), un vaccino anti-difterite-tetano-pertosse a cellule intere (DTP) prodotto da Connaught (CLI), ed un vaccino anti-difterite e tetano (DT) prodotto da Chiron Biocine. La composizione dei vaccini utilizzati è riportata in Tabella 1.

Tabella 1. - Vaccini, composizione per dose

| | DTP Connaught | DTaP CB | DTaP SB | DT CB |
|-----------------------------------|------------------|-------------------|--------------------|----------|
| Tossoide difterico | 6.65 Lf | 25 Lf | 25 Lf | 25 Lf |
| Tossoide tetanico | 5 Lf | 10 Lf | 10 Lf | 10 Lf |
| Antigeni pertosse, cellule intere | 5.7 U.I. | | | |
| PT | | 5 µg ⁺ | 25 µg [°] | |
| FHA | | 2.5 µg | 25 µg | |
| PRN | | 2.5 µg | 8 µg | |
| Alluminio fosfato | 0.15 mg Al | 0.35 mg Al | 0.5 mg Al | 0.7 mg |
| Thimerosal | 0.05 mg | 0.05 mg | 0.05 mg | 0.05 mg |
| 2-Fenossietanolo | | | 2.5 mg | |

+ = ricombinante, non tossica

° = detossificata con formalina e glutaraldeide

DTP Connaught: vaccino a cellule intere Connaught Laboratories, Inc (Swiftwater, Pennsylvania, USA); lotto 5299A

DTaP CB: vaccino acellulare Chiron Biocine SpA (Siena, Italia); lotto 24 PFK/AH

DTaP SB: vaccino acellulare SmithKline Beecham (Rixensart, Belgio); lotto DTPa 116

DT CB: vaccino Chiron Biocine SpA (Siena, Italia); lotto 141

I due vaccini antipertosse acellulari contengono entrambi solo tre proteine di *B. pertussis*: tossina pertussica (PT), emoagglutinina filamentosa (FHA), pertactina (PRN).

La differenza tra i due prodotti consiste nel dosaggio relativo degli antigeni e nel metodo di inattivazione della PT: quella contenuta nel vaccino SB è detossificata con metodi chimici (formalina e glutaraldeide), mentre la PT del vaccino CB è una proteina non tossica perchè prodotta da un gene mutato. Entrambi i vaccini sono attualmente in commercio in Italia.

Il vaccino tradizionale di confronto è un prodotto statunitense in uso da circa un ventennio che è stato scelto per poter generalizzare i risultati dello studio anche a livello internazionale. Lo stesso lotto dello stesso vaccino tradizionale usato nel PP è stato utilizzato anche nell'analogo studio Svedese. Il vaccino a cellule intere è costituito da una sospensione di *B. pertussis* uccisa al calore. Il lotto, testato dalla Food and Drug Administration, è stato commercializzato negli Stati Uniti.

In base alla documentazione sulla sicurezza, l'immunogenicità e la stima di efficacia post-commercializzazione del vaccino a cellule intere Connaught, il Ministero della Sanità ha autorizzato l'utilizzo del prodotto non registrato nel nostro paese, per la conduzione del presente studio.

1.2 Obiettivi

L'obiettivo primario del PP era valutare l'efficacia assoluta di un ciclo di tre dosi dei due vaccini antipertosse acellulari e del vaccino antipertosse tradizionale. L'efficacia assoluta di ogni vaccino è ottenuta dal confronto tra l'incidenza di pertosse osservata tra i bambini vaccinati e quella osservata tra i bambini non vaccinati. L'efficacia di un vaccino indica la proporzione di casi prevenuti dalla vaccinazione.

Gli obiettivi secondari erano:

- 1) stabilire la capacità dei vaccini di indurre la formazione di anticorpi specifici (immunogenicità);
- 2) valutare la frequenza di eventi avversi successivi alle vaccinazioni antipertosse;
- 3) confrontare l'efficacia relativa di ognuno dei due vaccini acellulari, con quella del vaccino cellulare;
- 4) stabilire l'efficacia relativa dei due vaccini acellulari l'uno rispetto all'altro.

1.3 Disegno e dimensione dello studio

Il disegno dello studio è di tipo prospettico randomizzato controllato in doppio cieco.

Lo studio è definito come prospettico perchè una coorte di nuovi nati è stata arruolata, vaccinata e seguita nel tempo per valutare l'incidenza di pertosse.

L'ipotesi da saggiare era se i nuovi vaccini acellulari fossero efficaci almeno quanto quello tradizionale.

La dimensione dello studio necessaria a saggiare l'obiettivo primario è stata stimata assumendo che l'incidenza della pertosse tra i non vaccinati sarebbe stata pari al 5%, e che tale incidenza sarebbe stata ridotta dell'80% circa tra i bambini vaccinati con uno dei tre prodotti antipertosse, avendo scelto una potenza dello studio pari all'80%. È stato stimato quindi che un campione di 4.235 bambini per ogni vaccino antipertosse e un campione di 1.411 bambini vaccinati con il solo DT sarebbe stato sufficiente ad identificare una differenza relativa tra i vaccini tale che il rischio di contrarre la pertosse tra i vaccinati con un prodotto fosse mediamente superiore del 50% rispetto ai vaccinati con un altro prodotto (Rischio relativo = 1.5). Il calcolo della dimensione della popolazione da includere nello studio ha inoltre tenuto conto che una quota di bambini non avrebbe completato il periodo di osservazione e di una possibile minore incidenza di pertosse dovuta alle variazioni cicliche attese. Sono stati quindi arruolati 15.601 bambini suddivisi in quattro gruppi (bracci dello studio) in cui ogni gruppo vaccinato contro la pertosse includeva un numero di bambini tre volte maggiore rispetto al gruppo di vaccinati con il solo DT (3:3:3:1).

Lo studio è randomizzato perchè l'assegnazione dei bambini ad uno dei quattro

vaccini dello studio è stata effettuata in modo casuale (random), al momento della prima vaccinazione. I vaccini erano contenuti in fiale identiche contrassegnate da un codice numerico. L'assegnazione dei codici alle fiale era stata effettuata utilizzando elenchi di numeri casuali generati da un computer. Ad ogni codice corrispondeva una serie di tre fiale contenenti lo stesso prodotto e necessarie per il ciclo vaccinale dello stesso bambino. La randomizzazione è stata suddivisa in blocchi di dieci, in modo tale che per ogni dieci triplette di fiale, etichettate con numeri progressivi, fosse mantenuta la proporzione relativa dei gruppi in studio (3:3:3:1).

I vaccini erano confezionati in scatole da dieci serie di tre fiale.

L'assegnazione del tipo di vaccino al singolo bambino è avvenuta in doppio cieco, cioè senza che nè i genitori nè le assistenti che avrebbero poi seguito il bambino per la rilevazione degli effetti collaterali e della pertosse, nè i coordinatori del Progetto sapessero di quale prodotto si trattava.

Un gruppo limitato di bambini arruolati, pari al 10% del totale, è stato incluso nello studio di immunogenicità, in modo da confrontare la risposta anticorpale indotta dai vaccini somministrati. Questi bambini hanno effettuato due prelievi di sangue capillare, il primo al momento della prima vaccinazione, il secondo 30 giorni dopo la terza dose.

1.4 Valutazione etica

Il disegno dello studio è stato inizialmente esaminato ed approvato dalla Commissione Nazionale per la Bioetica, dal Comitato di Bioetica della regione Piemonte e dal Institutional Review Board dei NIH. Presso l'ISS è stato quindi istituito un apposito Comitato di Bioetica, per valutare l'andamento nel tempo dello studio.

Ai genitori dei bambini partecipanti è stato richiesto di firmare un modulo di consenso informato.

1.5 Approvazioni formali

L'uso di vaccini non registrati è stato approvato dalla Direzione Servizio Farmaceutico del Ministero della Sanità, che ha richiesto anche il parere del Consiglio Superiore della Sanità (CSS) per l'approvazione del calendario vaccinale del Progetto Pertosse. Il CSS ha approvato il calendario proposto consigliando la somministrazione di una dose di DT per tutti i bambini del Progetto a distanza di sei mesi dalla terza dose.

2. ORGANIZZAZIONE GENERALE DEL PROGETTO

Le attività del Progetto sono state coordinate dall'ISS, dove il Laboratorio di Epidemiologia e Biostatistica (LEB) ha curato l'organizzazione generale e gli aspetti epidemiologici, mentre il Laboratorio di Batteriologia e Micologia Medica (LBMM) ha coordinato le attività microbiologiche.

E' stato istituito un Comitato Guida dello studio, i cui membri, con diverse competenze, hanno avuto ruolo di consulenti per i ricercatori del PP, ed un Comitato Indipendente per il Controllo della Sicurezza e Corretta Esecuzione delle Procedure presieduto da un Responsabile per la Sicurezza, che ha custodito i codici di identificazione per prodotto delle fiale in uso.

Hanno partecipato al Progetto 62 Unità Sanitarie Locali (USL) in 4 regioni italiane (Piemonte, Veneto, Friuli Venezia-Giulia e Puglia). In ognuna delle USL partecipanti il lavoro del Progetto è stato svolto a tempo pieno da Assistenti Sanitarie (AS), appositamente assunte dall'ISS con contratto a termine. All'inizio e durante il Progetto le AS hanno seguito corsi di formazione specifici, e sono state successivamente aggiornate con lettere circolari mensili ed incontri tenuti nelle regioni.

In ogni regione, il lavoro delle AS è stato coordinato e supervisionato da un Centro di coordinamento regionale, costituito da una unità epidemiologica. In ogni regione è stato inoltre identificato un laboratorio microbiologico di riferimento per la coltura di *B. pertussis*. Gli esami sierologici, invece, sono stati effettuati presso il LBMM dell'ISS e presso l'Istituto di Igiene dell'Università di Palermo.

Tutte le attività inerenti lo studio, esclusa la somministrazione delle vaccinazioni, sono state condotte localmente dalle AS. La sorveglianza degli effetti collaterali comuni e rari dopo la vaccinazione e la sorveglianza della pertosse sono state svolte dalle AS tramite contatti telefonici periodici con le famiglie. La diagnosi di pertosse veniva confermata dagli esami di laboratorio, secondo quanto specificato nel capitolo riguardante i metodi di valutazione di efficacia.

2.1 Arruolamento dei bambini

2.1.1 Informazione dei genitori. - Il Progetto veniva presentato ai genitori dei nuovi nati nei reparti di maternità e nei servizi di vaccinazione delle USL.

In base all'elenco dei nuovi nati, ottenuto dall'Ufficio di Stato Civile, ad ogni famiglia residente nelle aree del PP è stata inviata una lettera esplicativa del Progetto. La lettera era una copia completa delle informazioni utilizzate in seguito per richiedere il consenso informato. Successivamente l'assistente telefonava alla famiglia per

verificare la disponibilità a partecipare e la presenza dei criteri di elegibilità. Se i genitori erano d'accordo, veniva concordato un appuntamento per la prima vaccinazione del bambino a due mesi di età. Presso l'Ufficio Vaccinale l'Assistente spiegava di nuovo a voce lo studio ai genitori e dava loro l'opportunità di leggere il testo allegato al modulo di consenso informato (sovrapponibile a quello già ricevuto con la lettera a casa). Se i genitori decidevano di partecipare, firmavano il modulo e il bambino veniva vaccinato con uno dei vaccini del PP. Tutti coloro che decidevano di partecipare venivano informati di essere liberi, in ogni momento, di ritirarsi dallo studio.

2.1.2 Criteri di elegibilità. - Per determinare l'elegibilità dei bambini a partecipare, al momento della prima vaccinazione dovevano essere soddisfatti i seguenti criteri:

Medici

- peso \geq al 3° percentile per sesso ed età;
- non precedentemente vaccinato/a contro la pertosse;
- anamnesi negativa per:
 - pertosse,
 - patologia del sistema nervoso centrale o sofferenza perinatale,
 - convulsioni,
 - gravi malformazioni congenite con insufficienza renale e/o deficit di accrescimento,
 - deficit immunitario noto o sospetto (inclusi i nati da madri HIV positive) e malattie del sistema eritropoietico, incluse le anemie autoimmuni, i linfomi ecc.,
 - terapia corticosteroidica o immunosoppressiva di lunga durata (> 14 giorni).

Pratici

- età compresa tra 6 e 12 settimane;
- madre che parla italiano;
- famiglia contattabile per telefono e che non ha intenzione di trasferirsi per almeno 12 mesi;
- firma del consenso informato.

Costituivano invece criteri di interruzione del ciclo vaccinale i seguenti eventi, se verificatisi dopo la prima o seconda vaccinazione:

- temperatura rettale ≥ 40 °C entro 48 ore dalla vaccinazione;
- pianto persistente di durata ≥ 3 ore entro 48 ore dalla vaccinazione;
- episodi di ipotonia/iporesponsività entro 48 ore dalla vaccinazione;
- cianosi generalizzata entro 48 ore dalla vaccinazione;
- anafilassi entro 24 ore dalla vaccinazione;
- convulsioni;

- encefalite/encefalopatia.

La presenza di malattia febbrile (temperatura $\geq 38^{\circ}\text{C}$) veniva considerata come una controindicazione relativa alla vaccinazione, che veniva rimandata fino alla guarigione.

L'arruolamento dei bambini è iniziato a settembre 1992 ed è terminato a settembre 1993. L'arruolamento per mese dei bambini partecipanti nelle 62 USL è riportato in Figura 2.

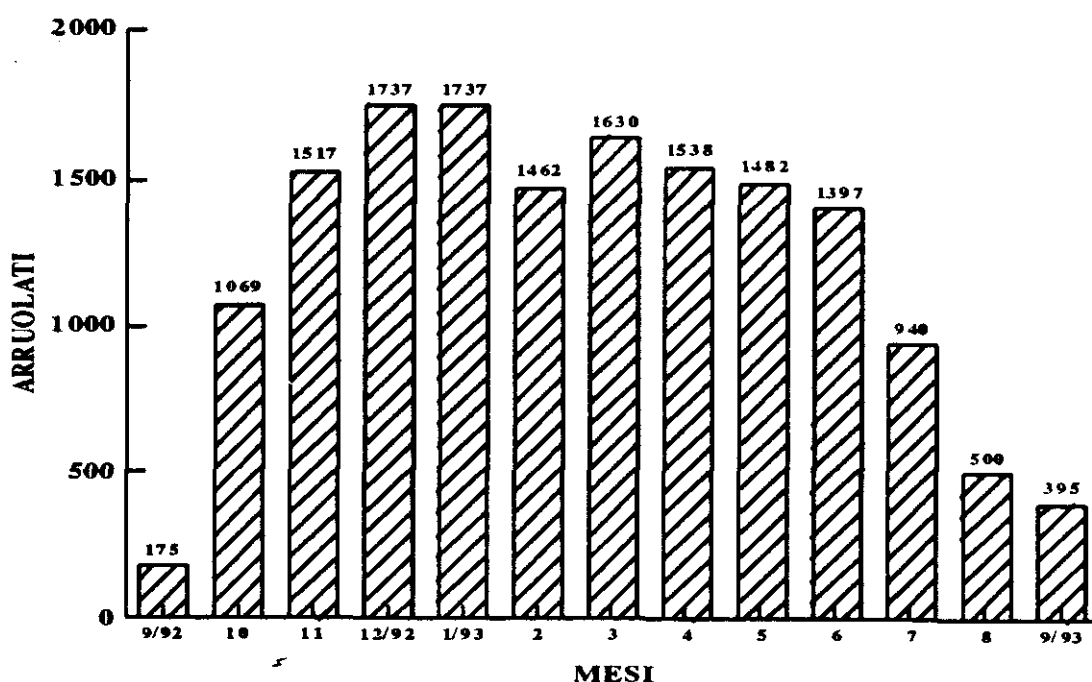


Figura 2. - Distribuzione degli arruolati (15.601) per mese, settembre 1992 - settembre 1993

2.1.3 Calendario vaccinale. - Le vaccinazioni sono state effettuate nelle seguenti fasce di età:

- prima dose a 6-12 settimane di età;
- seconda dose a 13-20 settimane di età;
- terza dose a 21-28 settimane di età.

L'intervallo tra una dose e la successiva era minimo di 4 e massimo di 12 settimane. Quindi, l'età minima di completamento delle tre dosi è stata 5 mesi, mentre l'età massima è stata 7 mesi.

La maggior parte delle vaccinazioni (89%) sono state praticate nel gluteo, secondo la pratica di routine in Italia. Sia alla prima che alla seconda dose del Progetto il 94% dei

bambini è stato contemporaneamente vaccinato anche contro la poliomielite ed il 92% contro l'epatite B. La somministrazione simultanea di altre vaccinazioni si è verificata in maniera bilanciata nei 4 gruppi di bambini vaccinati con i diversi prodotti *in studio*.

2.2 Flusso dei dati

Per archiviare ed analizzare le informazioni riguardanti i bambini arruolati, raccolte su circa 30 differenti moduli, è stato necessario utilizzare un flusso informatizzato di dati, per cui tutti i centri partecipanti sono stati dotati di un personal computer da dedicare al Progetto. E' stato prodotto un software "ad hoc" per archiviare i dati e sono stati preparati specifici programmi di gestione dati per le assistenti, per i laboratori, per le unità di coordinamento. Manuali e corsi di formazione hanno completato il materiale fornito in questo settore.

L'immissione dei dati su personal computer è stata curata localmente dalle assistenti dello studio. Il software di archiviazione era dotato di alcuni controlli per l'immissione di dati, generava automaticamente la lista dei genitori e dei pediatri dei bambini partecipanti, delle sospette pertossi da accertare, degli accertamenti diagnostici in corso e dei bambini da contattare per la sorveglianza degli episodi di tosse. Sono stati anche scritti dei programmi che generavano automaticamente le lettere da inviare ai pediatri con i risultati degli accertamenti di laboratorio.

Nelle USL i dati originali inseriti su computer venivano copiati dalle AS su dischetti che venivano inviati mensilmente ai coordinamenti regionali, e da qui all'ISS.

Il controllo di qualità dei dati raccolti è stato quindi effettuato sia a livello regionale che centrale. A livello regionale copia delle schede compilate ogni mese e delle loro registrazioni è stata revisionata singolarmente. In ISS sono stati preparati programmi computerizzati in grado di evidenziare sugli archivi inviati ogni mese incompletezze o incongruenze tra i dati registrati, nonché cambiamenti rispetto agli archivi già inviati nei mesi precedenti. Gli errori trovati sono stati comunicati mensilmente alle assistenti che erano le sole autorizzate ad apportare correzioni all'archivio. L'archivio veniva poi controllato in occasione della spedizione del mese successivo in modo da poter disporre ogni mese di una banca dati corretta a livello locale, regionale e centrale. Il Coordinamento ISS ha inviato inoltre resoconti periodici dei dati ai NIH.

Il materiale cartaceo originale (moduli di arruolamento, vaccinazione, ecc.) è stato conservato a livello locale, nelle USL. Al termine del PP tutto il materiale cartaceo originale è stato inviato all'ISS, dove verrà conservato.

2.3 Attività di monitoraggio clinico e supervisione

Per tutta la durata del PP è stata effettuata un'attività di controllo e supervisione del lavoro svolto, sia a livello locale che a livello centrale. Queste attività sono previste e regolamentate a livello europeo dal 1991 dalle "Norme di Buona Pratica Clinica", pubblicate in Italia nel 1992 (10). Il rispetto di tali norme è la condizione fondamentale per la valutazione dei risultati di uno studio clinico controllato e per l'utilizzo internazionale delle informazioni cliniche raccolte. Ogni trimestre il coordinatore regionale ha effettuato in ogni USL un "monitoraggio clinico", al termine del quale compilava un rapporto che inviava al Coordinamento centrale ISS. Se venivano rilevati problemi importanti, il coordinatore provvedeva ad informarne telefonicamente il Coordinamento ISS e la USL interessata veniva visitata più frequentemente fino alla risoluzione del problema. I problemi di maggior importanza venivano comunicati dal Coordinamento centrale al NIAID, NIH.

Ogni trimestre, inoltre, il coordinatore regionale ha inviato al Coordinamento centrale un rapporto sulla situazione complessiva dello studio nella sua regione.

Il personale dell'Investigational New Drug (IND), del NIAID dei NIH statunitensi ed i rappresentanti delle ditte produttrici dei vaccini utilizzati nel Progetto hanno condotto l'attività di supervisione ai monitoraggi clinici. Le visite di supervisione si sono svolte ogni tre mesi: sono state visitate le USL partecipanti, i Coordinamenti ed i Laboratori regionali, il Laboratorio per la sierologia di Palermo e l'ISS.

Tutta l'attività di monitoraggio clinico e quella di supervisione è stata articolata sulle varie fasi di conduzione dello studio, per cui all'inizio sono state condotte visite che hanno valutato le attività di arruolamento e vaccinazione dei bambini partecipanti, successivamente quelle di sorveglianza clinica ed in ultimo le attività di chiusura dello studio.

Oltre alle previste attività di monitoraggio clinico, il personale dell'ISS ha anche effettuato visite nelle sedi di conduzione del PP per valutare e risolvere specifici problemi (Tabella 2).

Tabella 2. - *Visite effettuate, per regione*

| Regione | Monitoraggio | Supervisione | Totale |
|--------------|--------------|--------------|--------|
| Piemonte | 187 | 29 | 216 |
| Veneto | 154 | 39 | 193 |
| Friuli V. G. | 130 | 23 | 153 |
| Puglia | 155 | 26 | 181 |
| Totale | 626 | 117 | 743 |

L'insoddisfacente qualità dei dati è stato il problema principale e si è verificata soprattutto nel corso del primo anno di studio. Il problema ha riguardato 55 (88.7%) delle 62 USL partecipanti. Il sistema di controllo a due livelli, regionale e centrale, ha permesso di raggiungere un'ottima qualità finale dei dati.

3. VALUTAZIONE DI SICUREZZA DEI VACCINI

3.1 Metodo di rilevazione dei dati

Tutti i bambini arruolati sono stati seguiti dalle AS dopo ogni vaccinazione per la sorveglianza degli effetti collaterali. Al momento della vaccinazione ai genitori veniva consegnato un diario da compilare per gli 8 giorni successivi (vedi allegato 1). Ogni giorno, sono stati indagati i seguenti sintomi: temperatura corporea, sonnolenza, irritabilità, inappetenza, vomito, pianto, tosse, diarrea, rossore, gonfiore e dolore locale. I genitori annotavano anche l'uso di farmaci antifebbrili e le visite mediche. Inoltre le famiglie venivano pregate di contattare immediatamente le AS in caso di insorgenza di qualunque sintomo inusuale, da loro considerato preoccupante. Le informazioni registrate dai genitori venivano quindi raccolte telefonicamente dalle AS 8-10 giorni dopo ogni vaccinazione, trascritte su un modulo e archiviate su computer. Nel caso si verificasse una reazione considerata grave, l'AS informava immediatamente tramite una linea telefonica verde, i pediatri del Coordinamento centrale dell'ISS, che raccoglievano direttamente informazioni cliniche dettagliate ed ottenevano copia della documentazione clinica disponibile (cartelle di ricoveri, esami di laboratorio, consulenze). Trascorsi gli 8 giorni dalla vaccinazione, l'AS continuava a seguire lo stato di salute del bambino telefonando mensilmente alla famiglia. In caso di esordio di una patologia grave l'AS ne comunicava l'insorgenza ai pediatri del Coordinamento centrale, che, come descritto precedentemente, controllavano la storia clinica. In caso di ricovero, l'AS raccoglieva informazioni sulla diagnosi all'ammissione e alla dimissione. Tutte le informazioni raccolte venivano archiviate su moduli e computer.

Reazioni collaterali comuni. - Sono state considerate come reazioni collaterali comuni:

- temperatura corporea rettale $\geq 38^{\circ}\text{C}$;
- pianto ≥ 1 ora
- irritabilità;
- sonnolenza;
- inappetenza;

- vomito;
- gonfiore, rossore e dolore locale

insorte entro 3 giorni dalla vaccinazione. Per ogni gruppo vaccinale è stata inoltre valutata la frequenza di febbre (temperatura rettale $\geq 38^{\circ}\text{C}$) nell'intervallo di tempo compreso tra il 4° e l'8° giorno dopo la vaccinazione.

Eventi gravi e ricoveri. - Gli eventi gravi sono stati classificati in base al momento di insorgenza rispetto alla vaccinazione. La distanza di tempo intercorsa tra vaccinazione ed insorgenza dell'evento veniva stabilita sulla base della storia clinica e riportata su un resoconto appositamente compilato da un pediatra del Coordinamento centrale dell'ISS.

Gli eventi sotto riportati, se verificatisi nell'intervallo di tempo specificato, venivano considerati sospette reazioni avverse gravi alla vaccinazione:

- temperatura rettale $\geq 40^{\circ}\text{C}$ entro 48 ore dalla vaccinazione;
- pianto persistente, inconsolabile, di durata ≥ 3 ore entro 48 ore dalla vaccinazione;
- episodi di ipotonia-iporesponsività/collasso (HHE) entro 48 ore dalla vaccinazione;
- cianosi generalizzata entro 48 ore dalla vaccinazione;
- convulsioni entro 72 ore dalla vaccinazione;
- anafilassi entro 24 ore dalla vaccinazione;
- encefalite/encefalopatia entro 7 giorni dalla vaccinazione.

Inoltre, gli eventi sotto riportati erano indagati per tutta la durata del follow-up dei bambini e, se verificatisi entro 60 giorni dalla ultima vaccinazione, sono stati considerati quali eventi gravi da includere nell'analisi di sicurezza:

- convulsioni;
- HHE/collasso;
- cianosi generalizzata;
- encefalite/encefalopatia;
- malattie batteriche invasive;
- malattie croniche gravi/tumori;
- malattie pericolose per la vita;
- altre malattie neurologiche;
- decessi;
- ricoveri ospedalieri.

Secondo quanto dettato dalle "Norme di Buona Pratica Clinica" italiane ed europee, erano inoltre sotto osservazione le malformazioni gravi diagnosticate dopo l'arruolamento, che però non sono state incluse nell'analisi di sicurezza.

Nell'analisi di sicurezza sono stati inclusi i dati riguardanti tutti i bambini che avevano ricevuto almeno una dose di vaccino del PP.

Per ognuno dei quattro gruppi vaccinali è stata valutata la frequenza di ogni evento, rispetto al totale delle dosi somministrate per gruppo. Per tutti gli eventi è stata misurata la significatività statistica della differenza osservata tra gruppi vaccinali, analizzati due a due, usando il test statistico del Chi-quadrato o il test esatto di Fisher, ed i valori associati di P. Per l'analisi è stato usato il software SPSSPC+, versione 4.1.

3.2 Validazione dei dati di sorveglianza degli effetti collaterali comuni

Il terzo giorno dopo ogni vaccinazione, i bambini che avevano aderito allo studio di immunogenicità sono stati visitati a casa dall'AS, che controllava lo stato generale del bambino, inclusa la eventuale presenza di reazioni locali, ed il diario compilato dai genitori nei giorni precedenti. I sintomi eventualmente presenti in terza giornata venivano annotati sul diario direttamente dall'AS. Per ogni braccio vaccinale le frequenze degli effetti collaterali osservate in questo gruppo di bambini sono state confrontate con le frequenze osservate nei bambini che non avevano partecipato allo studio di immunogenicità.

3.3 Risultati

Nell'analisi di sicurezza sono stati inclusi i dati riguardanti tutti i 15.601 bambini (49.6% femmine e 50.4% maschi) arruolati nel Progetto. L'età media al momento della prima, seconda e terza vaccinazione era rispettivamente di 2.4, 4.1 e 5.8 mesi.

La Tabella 3 mostra il numero di dosi somministrate per braccio vaccinale.

Tabella 3. - *Popolazione inclusa nell'analisi di sicurezza. Dosi somministrate per braccio vaccinale*

| BRACCIO | DTP | DTaP/CB | DTaP/SB | DT | TOTALE |
|---------------------|-------|---------|---------|-------|--------|
| 1 ^a dose | 4.678 | 4.672 | 4.696 | 1.555 | 15.601 |
| 2 ^a dose | 4.474 | 4.561 | 4.560 | 1.506 | 15.101 |
| 3 ^a dose | 4.368 | 4.480 | 4.505 | 1.479 | 14.832 |

Effetti collaterali comuni. - Le Tabelle 4 e 5 riportano le proporzioni di dosi seguite da effetti collaterali comuni osservati entro 3 giorni dalle vaccinazioni. Sono state escluse

le dosi per le quali mancavano i dati relativi allo specifico evento (per es. perchè i genitori non avevano compilato il diario). Le Tabelle riportano anche la significatività statistica delle differenze osservate tra gruppi vaccinali. Tutti gli effetti collaterali comuni, sia sistemici che locali, sono stati osservati con frequenza significativamente maggiore dopo somministrazione del vaccino tradizionale a cellule intere, mentre la maggior parte degli eventi sono stati osservati con frequenza sovrapponibile nei due gruppi di bambini vaccinati con prodotti antipertosse acellulari e nel gruppo di bambini vaccinati solo contro difterite e tetano.

Tabella 4. - Effetti collaterali comuni sistemici entro 3 giorni dalla vaccinazione. Percentuali su tutte le dosi somministrate

| | DTP | DTaP/CB | DTaP/SB | DT |
|---|-----------------|----------------|----------------|----|
| Temperatura rettale $\geq 38^{\circ}$ C | 42 ^a | 7 ^b | 9 ^c | 6 |
| Pianto ≥ 1 ora | 12 ^a | 3 | 3 | 3 |
| Irritabilità | 52 ^a | 34 | 33 | 33 |
| Sonnolenza | 37 ^a | 22 | 22 | 22 |
| Inappetenza | 24 ^a | 14 | 14 | 13 |
| Vomito | 5 ^a | 4 | 4 | 4 |

a = P < 0.01 vs ogni altro vaccino

b = P < 0.01 vs DT

c = P < 0.01 vs DTaP/CB e DT

Tabella 5. - Effetti collaterali comuni locali entro 3 giorni dalla vaccinazione. Percentuali su tutte le dosi somministrate

| | DTP | DTaP/CB | DTaP/SB | DT |
|------------------------|-----------------|----------------|----------------|----|
| Rossore | 26 ^a | 8 | 10 | 8 |
| Rossore ≥ 2.4 cm | 9 ^a | 1 | 2 ^c | 1 |
| Gonfiore | 26 ^a | 7 ^b | 9 ^c | 6 |
| Gonfiore ≥ 2.4 cm | 10 ^a | 1 ^b | 2 ^c | 1 |
| Dolore | 30 ^a | 5 | 5 | 4 |

a = P < 0.01 vs ogni altro vaccino

b = P < 0.01 vs DT

c = P < 0.01 vs DTaP/CB e DT

Solo la febbre e il gonfiore locale si sono verificati con frequenza leggermente superiore nei bracci acellulari rispetto al braccio DT, e, confrontando tra loro i due bracci acellulari, più spesso nei vaccinati con il DTaP/SB. Anche il rossore locale di diametro ≥ 2.4 cm era leggermente più frequente nei vaccinati con il DTaP/SB che nei vaccinati con il DTaP/CB, che presentavano una frequenza di questo sintomo sovrapponibile a quanto osservato nel gruppo DT.

Nei 3 gruppi di bambini vaccinati con i due prodotti acellulari e con il DT la frequenza osservata di febbre, rossore e gonfiore locale, pur rimanendo sempre molto inferiore a quella osservata nei bambini vaccinati con il DTP, aumentava all'aumentare del numero delle dosi somministrate, mentre nel gruppo di bambini vaccinati con il DTP la frequenza di questi sintomi è rimasta costante. Va comunque sottolineato che nel gruppo dei bambini vaccinati con il DTP si è verificato un maggior numero di interruzioni del ciclo vaccinale prima del completamento delle tre dosi. In questo gruppo, un numero doppio di quello osservato negli altri tre bracci ha interrotto le vaccinazioni dopo la prima dose, proprio per il maggior numero di reazioni collaterali osservate.

Tutti gli altri sintomi sistemici (per es. irritabilità, sonnolenza, inappetenza) sono stati invece osservati in tutti i bracci con maggior frequenza dopo la somministrazione della prima dose, e con frequenza decrescente dopo le dosi successive.

Insorgenza di febbre $\geq 38^\circ\text{C}$ dal 4° all'8° giorno dopo le vaccinazioni. - Dopo il terzo giorno dalle vaccinazioni (tutte le dosi) la frequenza osservata di febbre diminuiva drasticamente, e non sono state osservate differenze tra bracci.

Uso di farmaci antipiretici il giorno della vaccinazione. - I farmaci antipiretici possono essere somministrati come profilassi della febbre dopo la vaccinazione antipertosse. In Italia non è attualmente ben nota l'attitudine all'uso profilattico di antipiretici e non ci sono raccomandazioni standardizzate. Questi farmaci, inoltre, vengono spesso prescritti come terapia in caso di insorgenza di febbre o di importanti reazioni locali associate a dolore. Il tipo di informazioni raccolte nel PP non permetteva di distinguere se i farmaci antipiretici fossero stati somministrati prima o dopo l'insorgenza della febbre. Ciò nonostante, per valutare il potenziale effetto dei farmaci antipiretici sull'insorgenza di febbre post-vaccinazione, per ogni braccio vaccinale è stata calcolata la percentuale di bambini trattati in prima giornata, e questa è stata poi confrontata con la percentuale di bambini che lo stesso giorno avevano presentato febbre (Tabella 6).

Tabella 6. - *Uso di farmaci antifebbrili nello stesso giorno della vaccinazione nei bambini con e senza febbre. Percentuali su tutte le dosi*

| | DTP | DTaP/CB | DTaP/SB | DT |
|--|-----|---------|---------|----|
| Totale trattati con antipiretici | 24 | 2 | 3 | 2 |
| Bambini con febbre $\geq 38^\circ$ trattati con antipiretici | 84 | 65 | 69 | 63 |

La probabilità osservata che i bambini venissero trattati con antipiretici era maggiore in quei bracci vaccinali in cui la percentuale di bambini con febbre era più elevata. Non c'era quindi alcun elemento che facesse pensare che le differenze di frequenza di febbre osservate tra gruppi di vaccini fosse dovuta ad un differente uso di farmaci antipiretici, visto che la percentuale di bambini trattati con antipiretici è maggiore nel braccio in cui è maggiore la percentuale di bambini con febbre.

Controllo di qualità. - Confrontando i dati circa le reazioni collaterali riportate per i bambini partecipanti allo studio di immunogenicità controllati a casa dalle AS con i dati riportati per tutti gli altri bambini sono state osservate solo piccole differenze. In particolare alcune reazioni comuni sono state riportate con frequenza leggermente maggiore tra i bambini visitati a casa dalle AS. Queste minime differenze erano ugualmente distribuite tra gruppi vaccinali, garantendo la riproducibilità dei dati di sicurezza ottenuti dalla totalità dei bambini partecipanti.

Eventi gravi e ricoveri. - Gli eventi gravi osservati per braccio sono riportati in Tabella 7. Vista la rarità di questi eventi, la Tabella presenta la frequenza di ogni sintomo come proporzione per mille dosi somministrate. La Tabella include gli eventi verificatisi entro 48 ore dalla vaccinazione, considerati sia come sospette reazioni collaterali alla vaccinazione che come controindicazioni alla somministrazione di dosi successive. Le convulsioni venivano considerate come sospette reazioni collaterali quando insorte entro 72 ore ma siccome nessuna convulsione è stata osservata tra 48 e 72 ore dalla vaccinazione, anche per le convulsioni la Tabella include gli eventi verificatisi entro 48 ore.

Il pianto prolungato, la febbre alta e gli episodi di ipotonia/iporesponsività si sono verificati con frequenza significativamente maggiore nel braccio DTP rispetto ai due acellulari. Per tutti gli eventi gravi le frequenze osservate nei due acellulari sono assolutamente sovrapponibili a quelle osservate nei bambini vaccinati solo con DT, e non sono state osservate differenze tra i due prodotti acellulari. Gli episodi di cianosi generalizzata e le convulsioni sono stati osservati molto raramente e non sono state

osservate differenze significative tra vaccini. Non sono stati osservati episodi di anafilassi e/o di encefalite/encefalopatia. Tutti i bambini che hanno avuto eventi gravi sono guariti senza sequele.

Tabella 7. - *Eventi gravi entro 48 ore dalla vaccinazione. Tassi per 1.000 su tutte le dosi somministrate*

| | DTP | DTaP/CB | DTaP/SB | DT |
|---|------------------|---------|---------|-----|
| Pianto prolungato ≥ 3 ore | 4.0 ^a | 0.6 | 0.8 | - |
| Temperatura rettale $\geq 40^{\circ}$ C | 2.4 ^a | 0.3 | 0.4 | 0.4 |
| Ipotonia/collasso | 0.7 ^b | 0.1 | - | 0.4 |
| Cianosi generalizzata | 0.1 | - | - | - |
| Convulsioni | 0.2 | - | 0.1 | - |

a = P < 0.01 vs ogni altro vaccino

b = P < 0.01 vs ogni altro DTaP

Per quanto riguarda gli eventi gravi, sotto sorveglianza durante l'intero periodo di follow-up, entro 60 giorni dall'ultima vaccinazione non è stata osservata alcuna differenza di frequenza tra vaccini. La frequenza osservata di questi eventi, sempre espressa come proporzione per 1.000 dosi somministrate, è riportata in Tabella 8. In questo intervallo di tempo si sono verificati tre decessi, tutti attribuibili a Sindrome della morte improvvisa del lattante (SIDS). La frequenza osservata di decessi è stata molto inferiore all'atteso, dato che il numero di morti previste tra i bambini arruolati sulla base dei dati ISTAT di mortalità per lo stesso gruppo di età e per la stessa area geografica era di 12.

Tabella 8. - *Eventi gravi entro 60 giorni dalla vaccinazione. Tassi per 1.000 su tutte le dosi somministrate*

| | DTP | DTaP/CB | DTaP/SB | DT |
|---------------------------------|------|---------|---------|------|
| Convulsioni | 0.8 | 0.4 | 0.7 | 0.9 |
| Malattie batteriche invasive | 0.2 | 0.1 | 0.1 | 0.2 |
| Malattie croniche gravi | 0.3 | - | 0.2 | - |
| Malattie potenzialmente mortali | - | 0.1 | 0.1 | - |
| Altre malattie neurologiche | 0.1 | - | - | - |
| Decessi (SIDS) | - | 0.1 | 0.1 | - |
| Ospedalizzazioni | 23.4 | 20.3 | 18.7 | 25.5 |

4. VALUTAZIONE DI IMMUNOGENICITA' DEI VACCINI

4.1 Metodi

Per determinare le proprietà immunogeniche dei vaccini in studio è stato proposto ai genitori dei bambini arruolati tra il 21 dicembre 1992 e il 9 settembre 1993 di far effettuare loro due prelievi di sangue capillare, il primo al momento della prima vaccinazione, il secondo 30 giorni dopo la terza dose.

Scopo dello studio era confrontare la risposta immune indotta dal vaccino a cellule intere con quella indotta dai vaccini acellulari.

I campioni di sangue capillare prelevati dalle AS sono stati inviati ai laboratori regionali con trasporto refrigerato entro 24 ore dal prelievo. Nei laboratori regionali i campioni di siero venivano separati in aliquote, conservati a -80°C ed inviati mensilmente ai laboratori centrali di Roma e Palermo.

In particolare, per ogni campione:

- due aliquote venivano inviate al Laboratorio dell'Università di Palermo, dove venivano eseguiti i dosaggi ELISA degli anticorpi IgG ed IgA contro gli antigeni PT, FHA e PRN della *B. pertussis*;
- una terza aliquota, se la quantità di siero era sufficiente, veniva inviata al LBMM dell'ISS per il test di titolazione degli anticorpi neutralizzanti la PT su cellule di ovaio di Hamster cinese (test CHO).

Sono stati inclusi nell'analisi soltanto i bambini per i quali erano disponibili entrambi i prelievi. Per ogni braccio vaccinale sono state quindi calcolate le medie geometriche dei titoli anticorpali verso ognuno degli antigeni, ed il relativo intervallo di confidenza al 95%.

Per valutare la significatività statistica delle differenze osservate tra vaccini sono stati usati il t test di Student e il Wilcoxon rank sum test.

In ogni gruppo vaccinale è stata anche calcolata la percentuale di sierorispondenti, secondo due diverse definizioni: 1) bambini con un titolo post-vaccinale 4 volte maggiore del titolo pre-vaccinale e ≥ 4 volte il Minimo Livello Determinabile (MLD); 2) tutti i bambini il cui titolo post-vaccinale era ≥ 4 volte il MLD.

Il MLD è stato definito come il valore più basso del test considerato attendibile. Per le IgG anti PT ed FHA, il MLD era stabilito = 2 Unità ELISA, mentre per le IgG anti PRN era = 3 Unità ELISA. Per il test CHO il MLD è stato considerato la diluizione minima testata (1:40).

Le differenze nella proporzione di sierorispondenti tra ogni coppia di bracci vaccinali sono state valutate usando il test statistico del Chi-quadrato.

E' stata inoltre effettuata un'analisi multivariata per valutare gli eventuali effetti sulla risposta anticorpale della presenza di anticorpi materni, del sito di iniezione, della somministrazione di altri vaccini e della data di raccolta del prelievo post-vaccinale.

Per l'analisi è stato usato il software SPSSPC+, versione 4.1.

4.2 Risultati

Dei 1.654 bambini che avevano aderito allo studio di immunogenicità 1.572 avevano eseguito entrambi i prelievi e questi erano disponibili per l'analisi (449 nel gruppo DTP, 486 nel gruppo DTaP/CB, 476 nel gruppo DTaP/SB e 161 nel gruppo DT). Da un sottogruppo di 808 bambini erano stati inoltre raccolti i campioni per il test CHO (237 nel gruppo DTP, 251 nel gruppo DTaP/CB, 239 nel gruppo DTaP/SB e 81 nel gruppo DT).

La mediana del tempo di raccolta del campione prevaccinale era il giorno della prima vaccinazione (range: 4 giorni prima - 12 giorni dopo), mentre la mediana del tempo di raccolta del campione postvaccinale era 34 giorni dopo la terza dose (range: 15 - 95 giorni dopo la terza dose).

Le Tabelle 9-12 mostrano le medie geometriche (GMT) pre e post vaccinazione (con gli intervalli di confidenza al 95%) dei titoli anticorpali IgGPT, IgGFHA, IgGPRN e degli anticorpi neutralizzanti la PT su cellule CHO.

Per quanto riguarda i titoli pre-immunizzazione, non sono state osservate differenze significative tra gruppi vaccinali. Per il titolo post-immunizzazione, invece, entrambi i prodotti antipertosse acellulari hanno indotto verso tutti gli antigeni testati una risposta migliore del vaccino antipertosse tradizionale ($P < 0.01$). Il vaccino antipertosse tradizionale ha comunque indotto una risposta anticorpale significativamente maggiore del DT ($P < 0.01$). Confrontando tra di loro i due vaccini acellulari, il vaccino CB ha indotto un maggior aumento delle IgGPT del vaccino SB ($P < 0.01$), mentre il vaccino SB ha indotto un maggior aumento delle Ig-GFHA e Ig-GPRN ($P < 0.01$).

Tabella 9. - Medie geometriche (GMT) pre e post-vaccinazione (con intervalli di confidenza al 95%) per IgGPT

| | Pre-immunizzazione | | | Post-immunizzazione | |
|---------|--------------------|------|-------------|---------------------|----------------|
| | N. | GMT | IC 95% | GMT | IC 95% |
| DTP | 449 | 1.63 | 1.52 - 1.76 | 1.22 | 1.14 - 1.31 |
| DTaP/CB | 486 | 1.64 | 1.52 - 1.77 | 94.39 | 88.82 - 100.29 |
| DTaP/SB | 476 | 1.66 | 1.53 - 1.79 | 51.28 | 47.88 - 54.93 |
| DT | 161 | 1.66 | 1.46 - 1.89 | 1.04 | 1.00 - 1.07 |

Tabella 10. - Medie geometriche (GMT) pre e post-vaccinazione (con intervalli di confidenza al 95%) per IgGFHA

| | Pre-immunizzazione | | | Post-immunizzazione | |
|---------|--------------------|------|--------------|---------------------|-----------------|
| | N. | GMT | IC 95% | GMT | IC 95% |
| DTP | 449 | 8.63 | 7.81 - 9.54 | 5.20 | 4.70 - 5.76 |
| DTaP/CB | 486 | 8.61 | 7.84 - 9.46 | 52.56 | 49.07 - 56.29 |
| DTaP/SB | 476 | 8.89 | 8.06 - 9.81 | 146.95 | 138.29 - 156.16 |
| DT | 161 | 8.82 | 7.52 - 10.34 | 1.48 | 1.34 - 1.62 |

Tabella 11. - Medie geometriche (GMT) pre e post-vaccinazione (con intervalli di confidenza al 95%) per IgGPRN

| | Pre-immunizzazione | | | Post-immunizzazione | |
|---------|--------------------|------|-------------|---------------------|-----------------|
| | N. | GMT | IC 95% | GMT | IC 95% |
| DTP | 449 | 2.60 | 2.38 - 2.83 | 9.85 | 8.61 - 11.28 |
| DTaP/CB | 486 | 2.68 | 2.47 - 2.92 | 136.59 | 126.98 - 146.81 |
| DTaP/SB | 476 | 2.75 | 2.51 - 3.00 | 274.24 | 253.61 - 296.66 |
| DT | 161 | 2.56 | 2.20 - 2.96 | 1.55 | 1.04 - 1.66 |

Tabella 12. - Medie geometriche (GMT) pre e post-vaccinazione (con intervalli di confidenza al 95%) per anticorpi neutralizzanti la PT (CHO)

| | Pre-immunizzazione | | | Post-immunizzazione | |
|---------|--------------------|-------|---------------|---------------------|-----------------|
| | N. | GMT | IC 95% | GMT | IC 95% |
| DTP | 237 | 42.25 | 37.27 - 47.90 | 22.97 | 21.44 - 24.60 |
| DTaP/CB | 251 | 37.37 | 33.42 - 41.79 | 787.61 | 718.22 - 863.52 |
| DTaP/SB | 239 | 38.82 | 34.58 - 43.58 | 229.98 | 203.66 - 259.70 |
| DT | 81 | 35.09 | 28.39 - 43.36 | 21.97 | 20.24 - 23.86 |

Anche per quanto riguarda gli anticorpi neutralizzanti la PT su cellule CHO, entrambi i vaccini acellulari hanno indotto una risposta maggiore del vaccino tradizionale ($P < 0.01$), e il vaccino acellulare CB ha indotto titoli più elevati del vaccino SB ($P < 0.01$). La differenza tra il vaccino DTP e il DT non era invece significativa ($P = 0.3953$).

La percentuale di sierorispondenti in ognuno dei gruppi vaccinali è riportata in Tabella 13.

Tabella 13. - Percentuale di sierorispondenti in ogni gruppo vaccinale, secondo le due differenti definizioni

| VACCINO | % sierorispondenti | | | | | | | |
|---------|--------------------|------|------|------|-----------------|-------|------|-------|
| | I definizione* | | | | II definizione^ | | | |
| PT | FHA | PRN | CHO | PT | FHA | PRN | CHO | |
| DTP | 4.2 | 13.1 | 37.9 | 1.7 | 4.2 | 36.5 | 47.7 | 1.7 |
| DTaP/CB | 96.7 | 60.5 | 95.9 | 93.6 | 99.8 | 99.4 | 99.8 | 100.0 |
| DTaP/SB | 94.5 | 85.1 | 96.6 | 67.8 | 98.9 | 100.0 | 99.6 | 80.3 |

* Campioni post vaccinali con un aumento del titolo di 4 volte rispetto al campione prevaccinale, ed un valore almeno $\geq 4 \times \text{MLD}$

^ Campioni post vaccinali $\geq 4 \times \text{MLD}$

Per entrambe le definizioni, nei due gruppi vaccinati con i prodotti acellulari la percentuale di sierorispondenti alla PT, alla PRN e agli anticorpi neutralizzanti la PT su cellule CHO era molto elevata ($> 95\%$), mentre nel gruppo di bambini vaccinati con il prodotto tradizionale la percentuale di rispondenti era significativamente minore (4.2% ; $P < 0.01$).

La percentuale dei rispondenti alla FHA, invece, variava in base alle definizioni. Considerando la prima, che teneva conto dei campioni prevaccinali, il numero di rispondenti era minore: 13.1% nel gruppo DTP, 60.5% nel gruppo DTaP/CB e 85.1% nel gruppo DTaP/SB. Le differenze osservate confrontando tra di loro due a due i tre gruppi erano tutte statisticamente significative ($P < 0.01$). Esaminando la seconda definizione, la percentuale dei rispondenti aumentava a $> 99\%$ nei due gruppi acellulari, mentre era significativamente minore nel gruppo tradizionale (36.5% ; $P < 0.01$).

L'analisi multivariata ha mostrato che le variabili prese in esame (anticorpi materni, sito di iniezione, concomitante somministrazione di altri vaccini, momento di esecuzione del prelievo), indipendentemente l'una dall'altra, non influenzavano la risposta immune.

5. VALUTAZIONE DI EFFICACIA CLINICA DEI VACCINI

5.1 Metodi

5.1.1 Sorveglianza della pertosse. - Al momento dell'arruolamento, le madri venivano istruite a tenere nota su di un calendario di tutti gli episodi di tosse del bambino. Se il bambino tossiva per più di 7 giorni, l'episodio veniva considerato come un caso di sospetta pertosse e la madre doveva contattare l'AS per eseguire gli accertamenti di laboratorio. In più l'AS svolgeva anche una sorveglianza attiva degli episodi di tosse, telefonando mensilmente alla famiglia. In caso di sospetta pertosse, i genitori compilavano un diario giornaliero dove venivano annotate le caratteristiche della tosse, i sintomi associati e le terapie effettuate. Questi dati venivano poi raccolti dall'AS con telefonate settimanali, trascritti su modulo ed archiviati su computer.

Gli accertamenti eseguiti in caso di sospetta pertosse includevano:

- un aspirato nasofaringeo ed un primo prelievo di sangue capillare (prelievo in fase acuta) effettuato dall'AS nel momento in cui veniva a conoscenza dell'episodio di sospetta pertosse;
- un secondo prelievo di sangue capillare (prelievo in fase convalescente) eseguito dall'AS 6-8 settimane dopo l'inizio della tosse.

5.1.2 Diagnosi di laboratorio di infezione da B. pertussis. - La diagnosi microbiologica era basata sull'isolamento colturale della *B. pertussis* dal muco ottenuto dall'aspirato nasofaringeo, eseguito con un catetere collegato ad una pompetta manuale. Appena raccolto l'aspirato, la punta del catetere veniva strisciata dall'AS su di una piastra di charcoal agar (piastra primaria). Quindi, dopo aver aspirato nel catetere 1.0 ml di soluzione salina tampone (PBS), la punta veniva tagliata e conservata in una provetta contenente charcoal agar.

L'aspirato nasofaringeo, la piastra primaria e la punta del catetere venivano inviati entro 24 ore e con trasporto refrigerato al laboratorio regionale, dove veniva eseguita la ricerca della *B. pertussis*. I batteri isolati venivano identificati mediante test biochimici e agglutinazione specifica con antisieri. Tutti i ceppi di *B. pertussis* e *parapertussis* venivano poi inviati al LBMM dell'ISS per essere conservati e per la conferma mediante test biochimici e PCR (polymerase chain reaction). I risultati ottenuti con la PCR sono stati sempre concordi con i test biochimici. Tramite anticorpi monoclonali è stata effettuata anche la tipizzazione dei ceppi di *B. pertussis* (tipo 1, 2 e 3).

La diagnosi sierologica di infezione era basata sulla presenza di un significativo aumento di titoli anticorpali specifici verso gli antigeni della *B. pertussis*.

I campioni di sangue prelevati dalle AS venivano inviati entro 24 ore con trasporto

refrigerato ai laboratori regionali, dove venivano separati e divisi in aliquote.

Quando la quantità di siero era sufficiente, questo veniva suddiviso in tre aliquote da 100 µl. Se il siero disponibile era meno di 200 µl, venivano preparate solo due aliquote. Le aliquote venivano poi conservate a -80°C ed inviate mensilmente in ghiaccio secco ai laboratori centrali.

Per ogni campione di sangue:

- due aliquote venivano inviate al Laboratorio dell'Università di Palermo, dove venivano eseguiti i dosaggi ELISA degli anticorpi IgG ed IgA contro gli antigeni PT ed FHA;
- la terza aliquota veniva inviata al LBMM dell'ISS per il test CHO, effettuato titolando gli anticorpi neutralizzanti la PT. Il test CHO è stato effettuato solo su una parte dei sieri, pari al 48.2% delle coppie di prelievi di sangue capillare.

Per la diagnosi di infezione si confrontavano i titoli anticorpali ottenuti dal prelievo in fase acuta con quelli del prelievo in fase convalescente. Per le IgG e le IgA anti PT veniva considerato diagnostico un aumento del 100% tra i due titoli anticorpali. Per quanto riguarda gli anticorpi anti FHA, invece, data la possibilità di una reattività crociata con le infezioni da *B. parapertussis*, veniva considerato come diagnostico un aumento del 100% del titolo anticorpale tra i due prelievi solo se la coltura e la PCR eseguite sull'aspirato nasofaringeo erano negative per *B. parapertussis*.

I casi in cui il materiale raccolto dall'aspirato non era sufficiente ad eseguire i test sopra indicati, sono stati esclusi dall'analisi di efficacia.

Per il metodo CHO veniva considerato diagnostico un aumento di 4 volte del titolo tra il siero in fase acuta e quello in fase convalescente.

5.1.3 Definizione di caso. - L'analisi primaria di efficacia è stata condotta sui casi che soddisfacevano i seguenti criteri, secondo la definizione dell'Organizzazione Mondiale della Sanità:

A. 21 o più giorni di tosse accessuale
più

B. coltura positiva per *B. pertussis*

o

aumento di almeno 2 volte degli anticorpi IgG e/o IgA anti PT tra il siero in fase acuta e quello in fase convalescente

o

aumento di almeno 4 volte degli anticorpi neutralizzanti la PT secondo il metodo CHO, tra il siero in fase acuta e quello in fase convalescente

o

aumento di almeno 2 volte degli anticorpi IgG e/o IgA anti FHA tra il siero in fase acuta e quello in fase convalescente, solo se coltura e PCR *B. parapertussis* erano

negative.

Perchè un incremento di 2 volte del titolo anticorpale venisse considerato diagnostico, inoltre, il titolo misurato sul siero convalescente doveva essere almeno 4 volte maggiore del Minimo Livello Determinabile (MLD). Per le IgG anti PT ed FHA il MLD era = 2 Unità ELISA, per le IgA anti FHA il MLD era = 3 Unità ELISA e per le IgA anti PT era = 10 Unità ELISA. Per il test CHO il MLD è stato considerato come la diluizione minima testata (1:40).

5.1.4 Popolazione. - L'efficacia assoluta delle tre dosi dei vaccini in esame è stata valutata sul periodo di tempo a partire da 30 giorni dopo la terza dose. Sono stati inclusi in questa analisi i 14.751 bambini vaccinati con tre dosi di quantità ≥ 0.40 ml dello stesso vaccino e che erano stati successivamente seguiti per almeno 30 giorni.

E' stata inoltre effettuata un'analisi per valutare se i vari gruppi vaccinali erano differenti per sesso; età alla prima, seconda e terza vaccinazione; proporzione degli episodi di sospetta pertosse (tosse > 7 giorni) in cui non erano stati eseguiti i prelievi di campioni biologici; numero di persone conviventi e di conviventi di età < 13 anni suscettibili alla pertosse al momento della prima vaccinazione; frequenza dell'asilo nido; uscita dal Progetto per ragioni diverse da effetti collaterali e pertosse.

Sono stati usati il test del Chi-quadrato e di Kruskal-Wallis.

5.1.5 Calcolo del periodo di follow-up. - L'efficacia è stata valutata su un arco di tempo medio di 17.2 mesi dopo il completamento del ciclo di tre dosi, e sono stati inclusi nell'analisi tutti i casi di pertosse accertati fino al 31/12/94. L'età media dei bambini partecipanti a questa data era di 23.9 mesi.

Per ogni bambino partecipante il periodo di osservazione è stato calcolato in giorni di follow-up, a partire da 30 giorni dopo la terza dose e fino al verificarsi della prima di una delle seguenti condizioni:

- 1) data di inizio della pertosse che soddisfaceva la definizione del protocollo; o
- 2) data di inizio tosse di un episodio che soddisfaceva i criteri diagnostici di laboratorio per la pertosse, indipendentemente dalla durata della tosse; o
- 3) data di inizio tosse di un episodio diagnosticato clinicamente durante un ricovero ospedaliero come pertosse; o
- 4) data in cui il bambino aveva ricevuto, al di fuori del Progetto, un vaccino antipertosse; o
- 5) data dell'ultimo contatto telefonico con un bambino che ha interrotto la sorveglianza clinica; o
- 6) il 31 dicembre 1994 (ultimo giorno utile per l'insorgenza di sospetta pertosse da includere nell'analisi di efficacia assoluta).

5.1.6 Terapia con macrolidi. - E' stato inoltre valutato l'effetto della terapia con macrolidi (eritromicina, iosamicina, azitromicina, claritromicina, miocamicina, rokitamicina) sulle stime di efficacia dei vaccini antipertosse.

5.1.7 Metodi statistici. - I bambini partecipanti sono stati seguiti per periodi variabili di tempo. Per tener conto di questo, le stime di efficacia vaccinale sono state ottenute con un approccio tempo-persona. In ogni gruppo, l'incidenza di malattia è stata calcolata come rapporto di casi osservati sul tempo totale di follow-up, calcolato in giorni. La stima dell'efficacia assoluta corrisponde a $1-R$, dove R corrisponde al rapporto delle incidenze di pertosse osservate rispettivamente nel gruppo dei vaccinati contro la pertosse (DTaP e DTP) e con DT. L'efficacia vaccinale è stata stimata con un intervallo di confidenza del 95%.

5.2 Risultati

Sono stati inclusi nell'analisi primaria 14.751 bambini (94.6% dei bambini arruolati) che erano stati vaccinati con 3 dosi dello stesso prodotto ed erano stati seguiti per almeno 30 giorni dopo la terza dose. La Tabella 14 presenta il numero di bambini partecipanti inclusi nell'analisi di efficacia, per gruppo vaccinale, rispetto al totale degli arruolati.

Tabella 14. - *Distribuzione dei bambini inclusi nell'analisi di efficacia, per gruppo vaccinale*

| Bambini | DTaP/SB | DTaP/CB | DTP | DT | TOTALE |
|--------------------|---------|---------|-------|-------|--------|
| Arruolati | 4.696 | 4.672 | 4.678 | 1.555 | 15.601 |
| Inclusi in analisi | 4.481 | 4.452 | 4.348 | 1.470 | 14.751 |

Tra le cause di non completamento del ciclo vaccinale vi sono state l'insorgenza di effetti collaterali e di patologie controindicanti le vaccinazioni, il trasferimento di alcune famiglie in USL non partecipanti al PP ed il rifiuto di altre a continuare lo studio; si sono anche verificati alcuni casi confermati di pertosse prima del completamento delle tre dosi.

Non vi erano differenze significative per le variabili considerate allo scopo di valutare il bilanciamento tra i bracci vaccinali (per es. sesso, età al momento delle vaccinazioni, numero di conviventi e di conviventi di età inferiore ai 13 anni, frequenza

di asilo nido) (vedi Tabella 15).

Solo nel 3.9% dei 295.000 contatti mensili totali relativi ai 15.601 bambini arruolati era riportata la frequenza all'asilo nido. Tra i quattro gruppi vaccinali non sono state osservate differenze.

Sono stati indagati 5.147 episodi di sospetta pertosse (tosse durata > 7 giorni), e nel 96% dei casi (4.942) sono stati eseguiti gli accertamenti di laboratorio.

Tabella 15. - *Caratteristiche demografiche dei 14.751 bambini inclusi nell'analisi di efficacia, per braccio vaccinale*

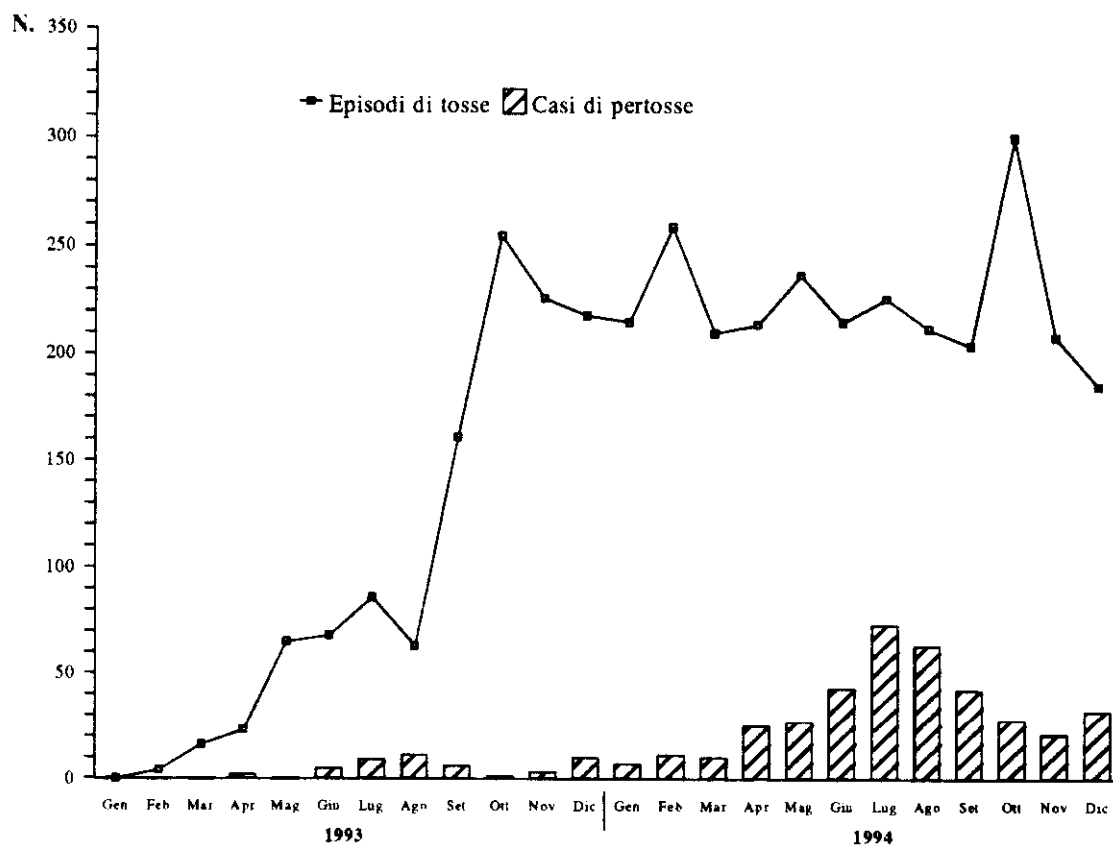
| | DTaP/SB | | DTaP/CB | | DTP | | DT | |
|--|---------|--------|---------|--------|-------|--------|-------|--------|
| | N. | % | N. | % | N. | % | N. | % |
| Maschi | 2.218 | 49.5 | 2.198 | 49.4 | 2.211 | 50.9 | 748 | 50.9 |
| Femmine | 2.263 | 50.5 | 2.254 | 50.6 | 2.137 | 49.2 | 722 | 49.1 |
| Età alla vaccinazione (giorni): | | | | | | | | |
| | Media | (D.S.) | Media | (D.S.) | Media | (D.S.) | Media | (D.S.) |
| 1 ^a dose | 74 | (9) | 74 | (9) | 74 | (9) | 74 | (9) |
| 2 ^a dose | 124 | (11) | 124 | (11) | 124 | (11) | 124 | (11) |
| 3 ^a dose | 174 | (14) | 174 | (14) | 174 | (14) | 174 | (14) |
| Numero di persone conviventi: | | | | | | | | |
| | N. | % | N. | % | N. | % | N. | % |
| 1-2 | 2.317 | 51.7 | 2.276 | 51.1 | 2.181 | 50.2 | 748 | 50.9 |
| 3-5 | 2.108 | 47.0 | 2.118 | 47.6 | 2.105 | 48.4 | 707 | 48.1 |
| >5 | 56 | 1.3 | 58 | 1.3 | 62 | 1.4 | 15 | 1.0 |
| Numero di conviventi di età < 13 anni: | | | | | | | | |
| | N. | % | N. | % | N. | % | N. | % |
| 0 | 2.570 | 55.4 | 2.537 | 57.0 | 2.449 | 56.3 | 842 | 57.3 |
| 1 | 1.505 | 33.6 | 1.506 | 33.8 | 1.522 | 35.0 | 511 | 34.8 |
| 2 | 353 | 7.9 | 362 | 8.1 | 331 | 7.6 | 105 | 7.1 |
| >2 | 51 | 1.1 | 44 | 1.0 | 43 | 1.0 | 11 | 0.7 |

La Tabella 16 mostra il numero totale di episodi di sospetta pertosse segnalati ed il numero di quelli in cui sono stati eseguiti gli accertamenti di laboratorio (episodi indagati), per gruppo vaccinale.

Del totale degli episodi indagati, 474 casi sono stati confermati come casi di pertosse; la Figura 3 mostra la distribuzione temporale degli episodi indagati di tosse e dei casi confermati di pertosse, per mese di insorgenza.

Tabella 16. - *Episodi indagati di sospetta pertosse*

| | DTaP/SB | DTaP/CB | DTP | DT | TOTALE |
|--|---------|---------|-------|-----|--------|
| N. episodi di sospetta pertosse (>7giorni) | 1.496 | 1.440 | 1.599 | 612 | 5.147 |
| N. episodi indagati | 1.440 | 1.381 | 1.530 | 591 | 4.942 |

**Figura 3.** - *Distribuzione temporale degli episodi indagati di tosse e dei casi confermati di pertosse, per mese di insorgenza, gennaio 1993-dicembre 1994*

Il numero di episodi di pertosse è aumentato all'aumentare dell'età dei bambini, ed è rimasto stabile fino al termine dell'arruolamento. Nell'andamento del numero di tosse rilevate ci sono stati 2 picchi, nell'autunno del 1993 e 1994. L'andamento dei casi confermati di pertosse mostra invece un pattern differente, con una maggiore incidenza durante i mesi estivi (luglio/agosto) sia del 1993 che del 1994. L'incidenza delle infezioni da *B. pertussis* è stata anche diversa tra regione e regione, come mostrato in Tabella 17.

Tabella 17. - *Episodi di sospetta pertosse osservati ed indagati, positivi per i criteri di laboratorio, e tasso di conferma per regione*

| Regione | Bambini | Episodi | Lab+ | Tasso di conferma % |
|--------------|---------|---------|------|---------------------|
| Piemonte | 3.392 | 993 | 124 | 12.5 |
| Veneto | 5.656 | 2.334 | 210 | 9.0 |
| Friuli V. G. | 1.986 | 694 | 34 | 4.9 |
| Puglia | 3.717 | 1.237 | 110 | 8.9 |
| Totale | 14.751 | 5.258 | 478* | 9.1 |

- * Quattro episodi di tosse, con conferma dell'infezione secondo i criteri di laboratorio, si sono verificati dopo un'interruzione nelle sorveglianze mensili. Tale interruzione è stata considerata il termine del periodo di follow-up.

In tutti i gruppi di vaccini i casi di pertosse sono stati leggermente più frequenti nelle bambine, con un rapporto maschi/femmine di 0.91.

Dei 474 casi confermati di infezione da *B. pertussis*, 288 avevano presentato tosse con spasmi per più di 21 giorni, soddisfacendo la definizione di caso.

L'efficacia dei vaccini nel prevenire clinicamente casi di pertosse caratterizzati da una tosse con spasmi durata più di 21 giorni è riportata in Tabella 18. La Tabella presenta nella prima colonna il numero di casi di pertosse confermati per braccio vaccinale e nella seconda colonna l'efficacia di ognuno dei vaccini. Tra parentesi vengono espressi gli estremi dell'intervallo di confidenza al 95% che indicano il grado di precisione della stima di efficacia ottenuta. Nei bambini vaccinati con ciascuno dei due prodotti acellulari, sono stati prevenuti l'84% dei casi di pertosse osservati nel gruppo di bambini non vaccinati, mentre l'efficacia del vaccino a cellule intere Connaught si è dimostrata inaspettatamente bassa, essendo stati prevenuti soltanto il 36% dei casi.

Nella Tabella 19, sono mostrati i valori di efficacia dei vari vaccini nel prevenire differenti manifestazioni cliniche della pertosse, tenendo conto della durata della tosse, indipendentemente dalle sue caratteristiche (con spasmi o senza). Come si vede, l'efficacia di tutti i vaccini aumenta all'aumentare della gravità delle manifestazioni

cliniche, espresse in giorni di tosse.

Tabella 18. - Numero di casi confermati di pertosse ed efficacia vaccinale (% e intervalli di confidenza al 95%), per gruppo vaccinale. Casi di pertosse con tosse spasmodica per almeno 21 giorni

| Vaccino | N. casi confermati | Efficacia (IC 95%) |
|---------|--------------------|--------------------|
| DTaP/SB | 37 | 83.9 (75.8 - 89.4) |
| DTaP/CB | 36 | 84.2 (76.2 - 89.7) |
| DTP | 141 | 36.1 (14.2 - 52.1) |

Tabella 19. - Efficacia vaccinale (% e intervalli di confidenza al 95%), [N. casi], calcolata nell'analisi secondaria per differente durata della tosse. Casi di pertosse con tosse di ogni tipo (non solo spasmodica)

| Durata della tosse (giorni) | Vaccino | | | |
|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|------|
| | DTaP/SB | DTaP/CB | DTP | DT |
| > 7 | 70.6 [84] (60.0 - 78.4) | 71.1 [82] (60.7 - 78.8) | 23.1 [211] (0.7 - 40.1) | [92] |
| ≥ 14 | 72.7 [78] (62.6 - 80.0) | 74.3 [73] (64.7 - 81.4) | 26.4 [202] (4.8 - 42.7) | [92] |
| ≥ 21 | 79.0 [58] (70.4 - 85.2) | 77.1 [63] (68.0 - 83.7) | 26.9 [194] (5.0 - 43.4) | [89] |
| ≥ 30 | 84.1 [40] (76.5 - 89.4) | 80.8 [48] (72.2 - 86.9) | 28.4 [173] (5.6 - 45.3) | [81] |
| ≥ 60 | 90.3 [15] (82.5 - 95.0) | 88.3 [18] (79.7 - 93.6) | 35.6 [96] (7.5 - 54.7) | [50] |

Terapia con macrolidi. - Nelle 474 infezioni confermate da *B. pertussis*, indipendentemente dalle caratteristiche cliniche della tosse, è stato valutato il ruolo del trattamento con macrolidi sulla stima della valutazione di efficacia dei vaccini. Ciò è stato fatto confrontando per ogni braccio vaccinale la durata della tosse nei bambini trattati con macrolidi entro i primi 14 giorni di tosse con i bambini non trattati.

La percentuale di bambini trattati era differente nei 4 gruppi vaccinali, tuttavia i bambini trattati hanno presentato una tosse di durata maggiore rispetto ai non trattati, anche se la differenza di durata tra trattati e non trattati non era statisticamente significativa tranne che nel gruppo DTaP/SB.

La durata della tosse, stratificata per presenza di trattamento, non differiva tra i due gruppi di vaccini acellulari. Sebbene l'effetto del trattamento antibiotico sulla durata della tosse necessiti di ulteriori analisi, i dati presentati suggeriscono che, nell'ambito del PP, la somministrazione di macrolidi sia un marker della severità dei sintomi e che non abbia causato distorsione della stima di efficacia vaccinale. La distribuzione della durata media della tosse per trattamento e gruppo vaccinale è riportata in Tabella 20.

Tabella 20. - Durata della tosse in 474 casi di infezione confermati dal laboratorio per tipo di vaccino somministrato e trattamento antibiotico entro i primi 14 giorni dall'inizio della tosse

| | Vaccino | | | |
|----------------------------------|-----------|-----------|------------|-----------|
| | DTaP/SB | DTaP/CB | DTP | DT |
| PAZIENTI TRATTATI | | | | |
| Numero (%) | 29 (33.3) | 44 (52.4) | 127 (60.2) | 69 (75.0) |
| Durata media della tosse, giorni | 57.8 | 45.1 | 69.9 | 78.1 |
| DS | 57.0 | 35.4 | 45.4 | 49.3 |
| PAZIENTI NON TRATTATI | | | | |
| Numero (%) | 58 (66.6) | 40 (47.6) | 84 (39.8) | 23 (25.0) |
| Durata media della tosse, giorni | 32.0 | 43.1 | 64.2 | 66.7 |
| DS | 22.7 | 37.6 | 39.3 | 34.0 |
| TOTALE | 87 | 84 | 211 | 92 |

CONCLUSIONI

I vaccini acellulari si sono mostrati sicuri, con una percentuale di effetti collaterali simile a quanto osservato nei bambini vaccinati solo contro DT, ed immunogenici fino ad un'età media di 2 anni. E' stata inoltre dimostrata l'elevata efficacia dei due vaccini acellulari, somministrati in tre dosi nel primo anno di vita, nel prevenire la pertosse. Il vaccino tradizionale a cellule intere utilizzato nel PP ha mostrato una frequenza di effetti collaterali sovrapponibile a quanto riportato in letteratura e la sua immunogenicità e la sua efficacia clinica si sono mostrate inaspettatamente basse.

BIBLIOGRAFIA

- 1) BINKIN NJ, SALMASO S, TOZZI AE, *et al.* The epidemiology of pertussis in a developed country with low vaccination coverage. *Pediatr Infect Dis J* 1992, 11: 653-661.
- 2) GIAMMANCO A, CHIARINI A, STROFFOLINI T, *et al.* Seroepidemiology of pertussis in Italy. *Rev Infect Dis* 1991, 13:1216-1220.
- 3) THE ITALIAN VACCINE COVERAGE WORKING GROUP. Childhood vaccination coverage in Italy: results of a seven-region survey. *Bulletin WHO* 1994, 72 (6):885-895.
- 4) TOZZI AE, BINKIN NJ, SALMASO S, *et al.* La vaccinazione antipertosse, conoscenza, attitudine e pratica dei pediatri e dei medici vaccinatori. *Medico e Bambino* 1994, 13: 34-38.
- 5) PODDA A, DE LUCA EC, TITONE L, *et al.* Acellular pertussis vaccine composed of genetically inactivated pertussis toxin: safety and immunogenicity in 12- to 24- and 2- to 4- month-old children. *J Pediatr* 1992, 120: 680-685.
- 6) PICHICHERO ME, FRANCIS AB, BLATTER MM, *et al.* Acellular pertussis vaccination of 2-month-old infants in the United States. *Pediatrics* 1992, 89:882-887.
- 7) ONORATO IM, WASSILAK SG, MEADE B. Efficacy of whole-cell pertussis vaccine in preschool children in the United States. *JAMA* 1992, 267:2745-2749.
- 8) Report of the nationwide multicenter acellular pertussis trial. M Decker, K Edwards (Eds.). *Pediatrics* 1995, 96 (3 Suppl): 547-603.
- 9) GRECO D, BINKIN NJ, SALMASO S, *et al.* Protocollo per un trial clinico in Italia sulla efficacia dei vaccini antipertosse acellulari. 14/9/1992.
- 10) ITALIA, MINISTERO DELLA SANITA'. DM 27/4/92. Disposizioni sulle documentazioni tecniche da presentare a corredo delle domande di autorizzazione all'immissione in commercio di specialità medicinali per uso umano, anche in attuazione della direttiva n. 91/507/CEE. Suppl. GU n. 139, 15/6/1992.

ALLEGATO 1 Diario per la sorveglianza degli effetti collaterali comuni

Mod. 24

Istituto Superiore di Sanità
Progetto Pertosse

Sorveglianza degli effetti collaterali comuni

Regione: USL: Distretto Vaccinale: Cognome e Nome del bambino:

Dose di vaccino somministrata: 1 2 3 4 Data somministrazione:

Sede inoculazione:

Codice della prima isola:

NOTA la prima sera è quella del giorno di somministrazione del vaccino

| | 1 ^a Sera | 2 ^a Sera | 3 ^a Sera | 4 ^a Sera | 5 ^a Sera | 6 ^a Sera | 7 ^a Sera | 8 ^a Sera |
|--|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| Temperatura rettale ¹ | | | | | | | | |
| Farmaci antifebrili ² | | | | | | | | |
| Sonnolenza ³ | | | | | | | | |
| Irritabilità ³ | | | | | | | | |
| Diarrea ⁴ | | | | | | | | |
| Inappetenza ³ | | | | | | | | |
| Vomito ⁴ | | | | | | | | |
| Tosse ³ | | | | | | | | |
| Rossore locale ⁶ | | | | | | | | |
| Gonfiore locale ⁶ | | | | | | | | |
| Dolore locale ³ | | | | | | | | |
| Pianto prolungato (ore) ⁶ | | | | | | | | |
| Visitato da un medico ² | | | | | | | | |
| Altro | | | | | | | | |
| Controllato dall'assistente ⁷ | | | | | | | | |

- 1 Annotare la temperatura
- 2 Annotare S o N
- 3 Annotare No. Leva. Forte
- 4 Annotare numero di episodi
- 5 Annotare No. Episodi (se come episodi da 0-24h)
- 6 Annotare il numero di ore
- 7 Compilazione riservata al P.Usualente

Il bambino ha eseguito durante la settimana altre vaccinazioni? SI NO

Segnalare quali e la data di esecuzione:

Note:

Data di fine compilazione:

*Direttore reggente dell'Istituto Superiore di Sanità
e Responsabile scientifico: Aurelia Sargentini*

Direttore responsabile: Vilma Alberani

*Stampato dal Servizio per le attività editoriali
dell'Istituto Superiore di Sanità, Viale Regina Elena, 299 - 00161 ROMA*

*La riproduzione parziale o totale dei Rapporti e Congressi ISTISAN
deve essere preventivamente autorizzata.*

Reg. Stampa - Tribunale di Roma n. 131/88 del 1° marzo 1988

Roma, giugno 1996 (n. 2) 10° Suppl.

*La responsabilità dei dati scientifici e tecnici
pubblicati nei Rapporti e Congressi ISTISAN è dei singoli autori*