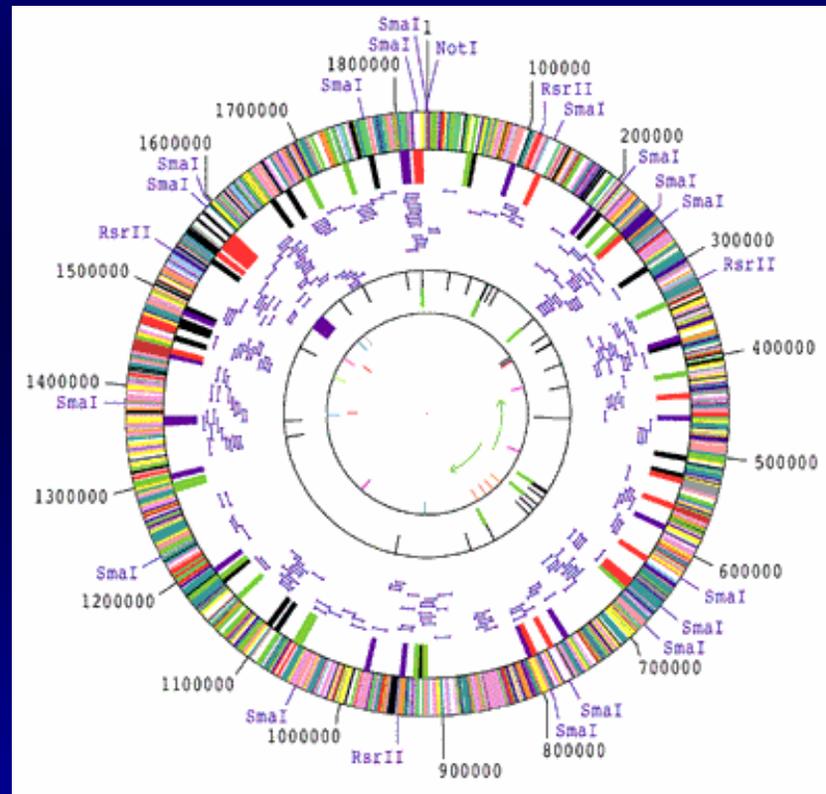


***HAEMOPHILUS INFLUENZAE  
IN EPOCA POST-VACCINALE***

MARINA CERQUETTI



# L'infezione e la malattia



# *Haemophilus influenzae*

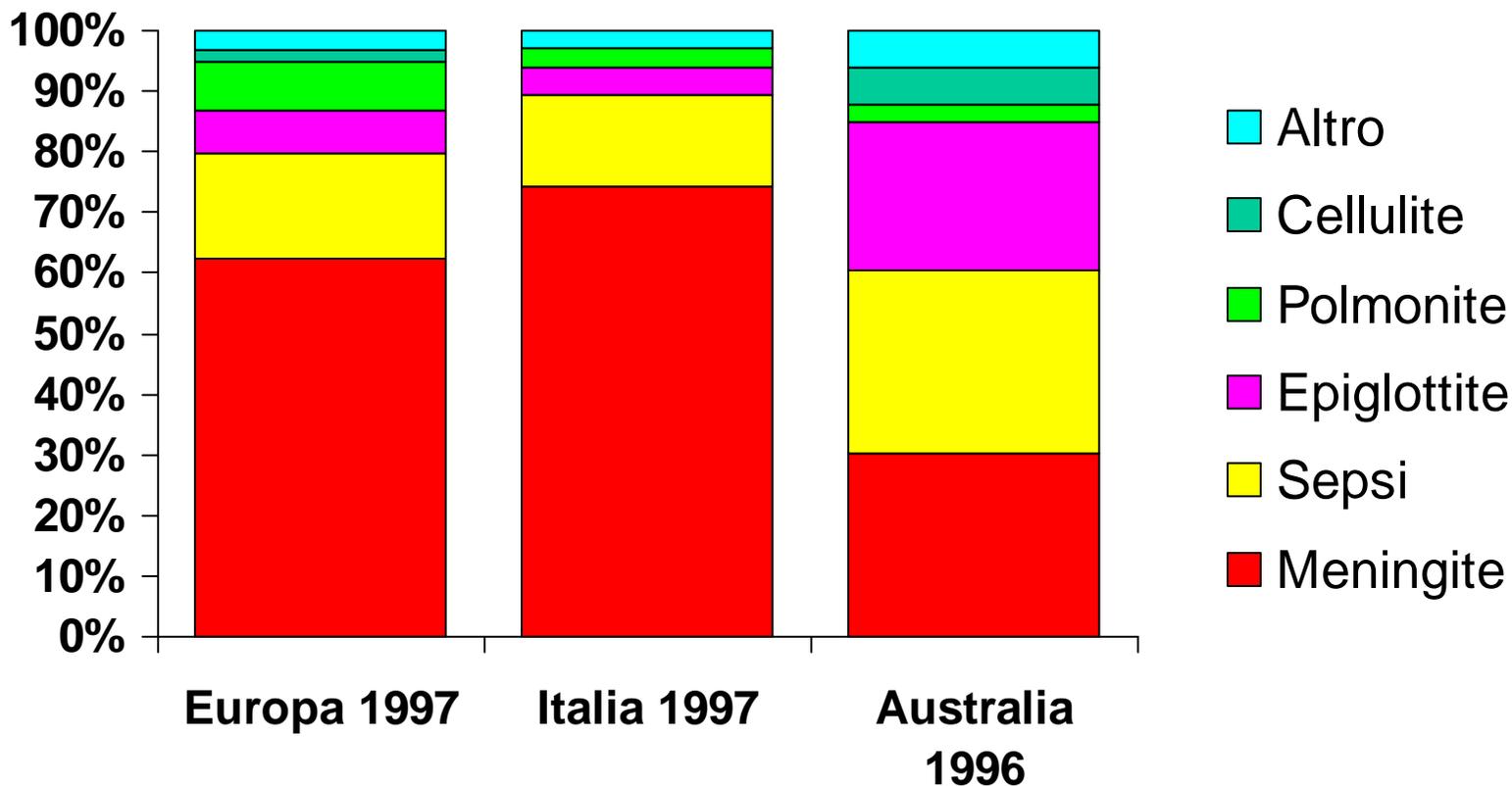
- **Coccobacillo gram-negativo**
  - **Ceppi capsulati (a-f)**
  - **Ceppi non capsulati (non tipizzabili)**
- **Colpisce solo l'uomo**
- **E' ubiquitario**
- **Spettro dell'infezione**
  - colonizzazione asintomatica**
    - malattia invasiva**

# Manifestazioni cliniche

- **Malattie non invasive**
  - soprattutto ceppi non capsulati
  - interessano prevalentemente le vie aeree superiori
- **Malattie invasive**
  - 95% tipo b, ma anche altri tipi capsulari e non capsulati
  - interessano siti normalmente sterili (meningiti, polmoniti settiche, sepsi, epiglottiti, celluliti ed artrite settica)

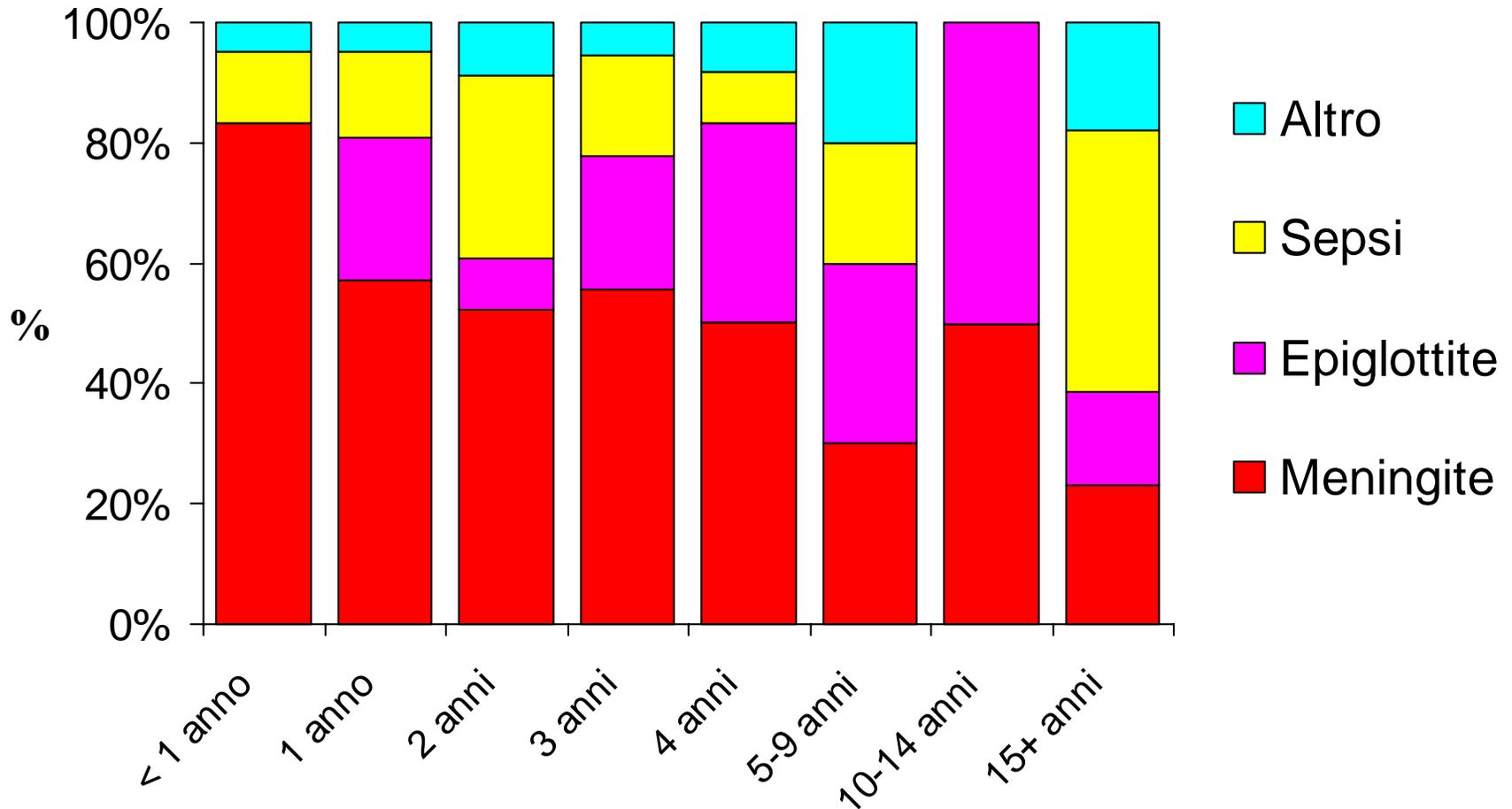
# Malattie invasive da Hib

## Diagnosi clinica in diverse aree geografiche 1996-1997



# Malattie invasive da Hib

Diagnosi clinica dei casi per fascia d'età  
in alcune nazioni Europee\*  
1996/1997



\*Finlandia, Irlanda, Olanda, Valencia, Svezia e UK aggregati

# Vaccinazione anti Hib

- Vaccini coniugati (PRP+ proteina carrier)
- Introdotti agli inizi degli anni 90
- Drastica riduzione dell'incidenza delle malattie invasive da Hib

# Vaccinazione anti-Hib in Italia

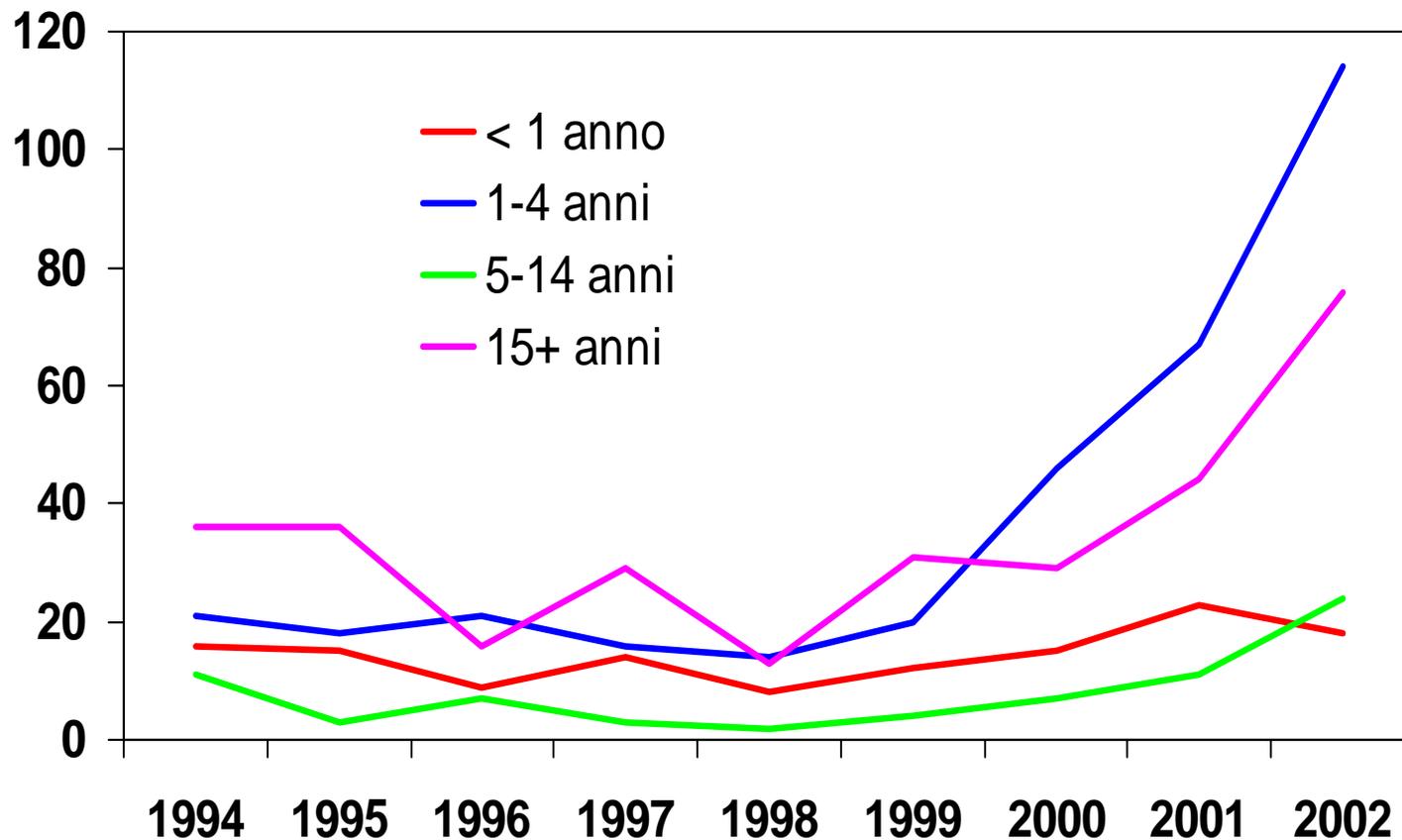
- Introdotta nel 1995 e raccomandata su base volontaria
- Inclusa nel Calendario Nazionale delle Vaccinazioni nel 1999
- Copertura vaccinale ha raggiunto l' **87 %** nei bambini tra i 12 e 24 mesi (dati ICONA 2003)
- Uso dei vaccini combinati per l'infanzia (vaccini esavalenti)

# Definizione di fallimento vaccinale

- **Malattia invasiva da Hib insorta**
  - **> 1 settimana dopo la seconda dose, per i bambini  $\leq 1$  anno di età**
  - **> 2 settimane dopo almeno 1 dose, per i bambini  $> 1$  anno di età**

# Infezioni invasive da Hib per gruppo di età, 1994-2002

*England and Wales, combined PHLS HRU/CDSC data*



# Fallimenti Vaccinali

- **Fattori di rischio dell'ospite**

Clinici: nati pre-terme

Immunologici: deficienze quantitative o qualitative di IgG2 o IgA specifiche

- **Fattori legati al vaccino**

Vaccini meno immunogenici (DTaP+Hib) o calendari vaccinali

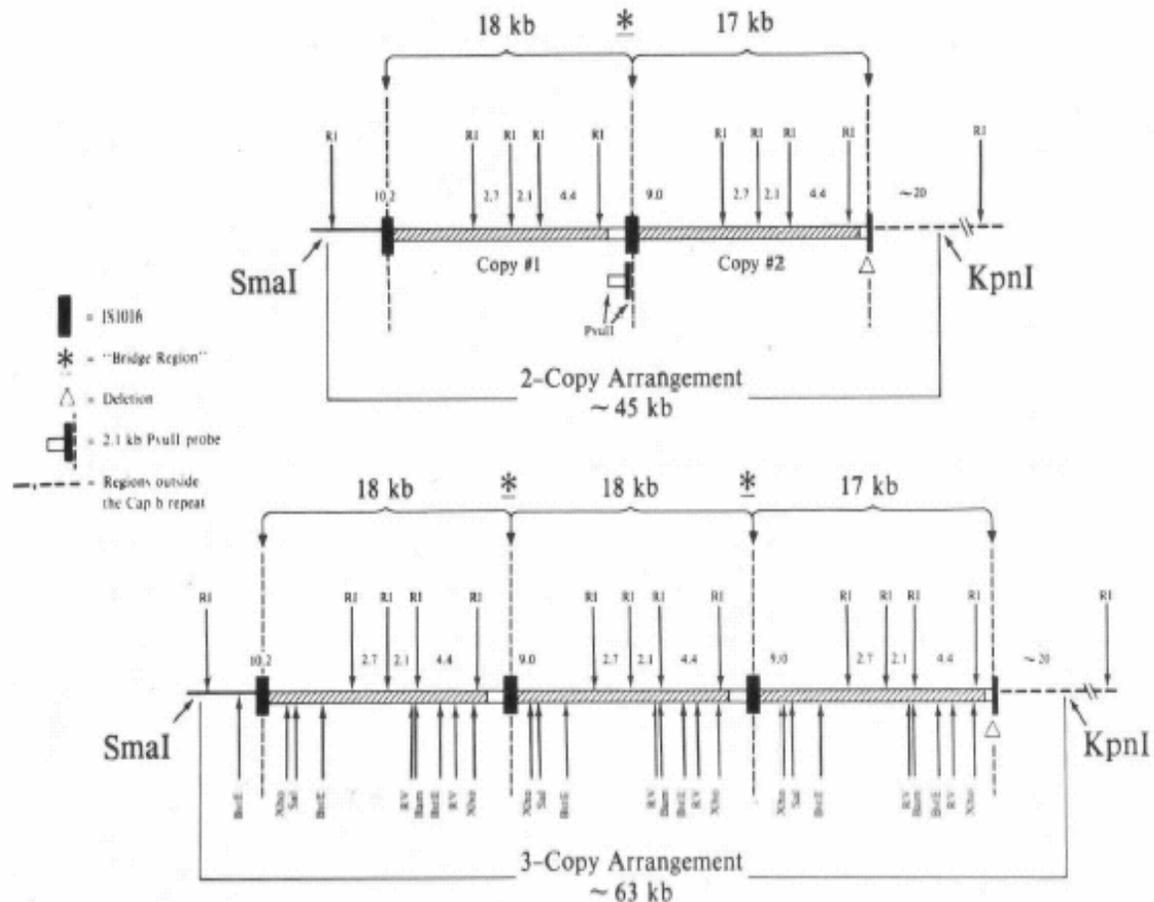
- **Fattori del microrganismo**

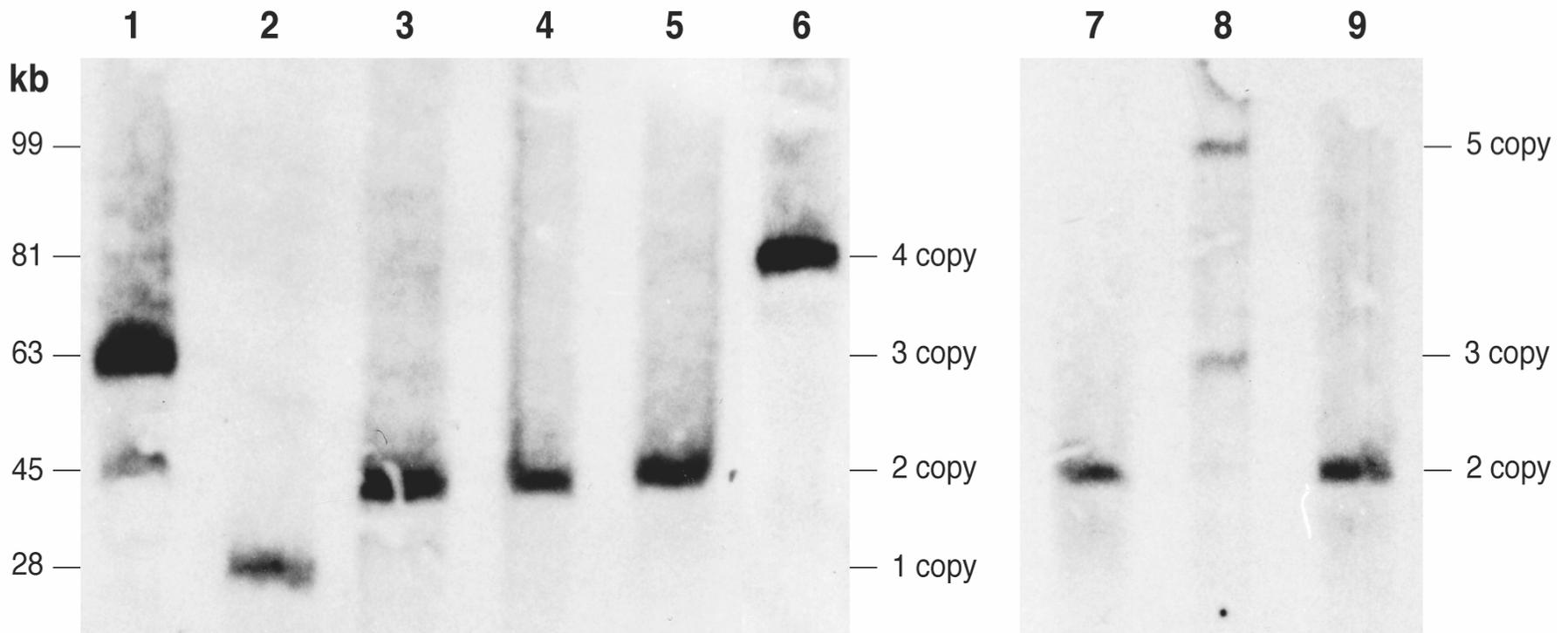
Geni codificanti capsula → “locus *cap b*”

Ceppi Hib invasivi → duplicazione del locus

Ceppi da fallimenti vaccinali → multiple copie del locus?

# Amplificazione del locus *cap b*





# Numero di copie del locus *cap b* in 230 ceppi Hib

N° copie	TVFs (1993-1999)	Controlli (1993-1999)	Controlli (1991-1992)	Totale
1	3	1	2	6
2	65	45	78	188
3	13	3	7	23
4	8	1	1	10
5	1	1	1	3
<b>Totale</b>	<b>90</b>	<b>51</b>	<b>86</b>	<b>230</b>

TVFs 22/90 (24,4%) vs. Controlli 93-99 5/51(9,8%) **p=0,03**  
vs. Controlli 91-92+93-99 14/140 **p=0,003**

# Infezioni invasive da Hi non b

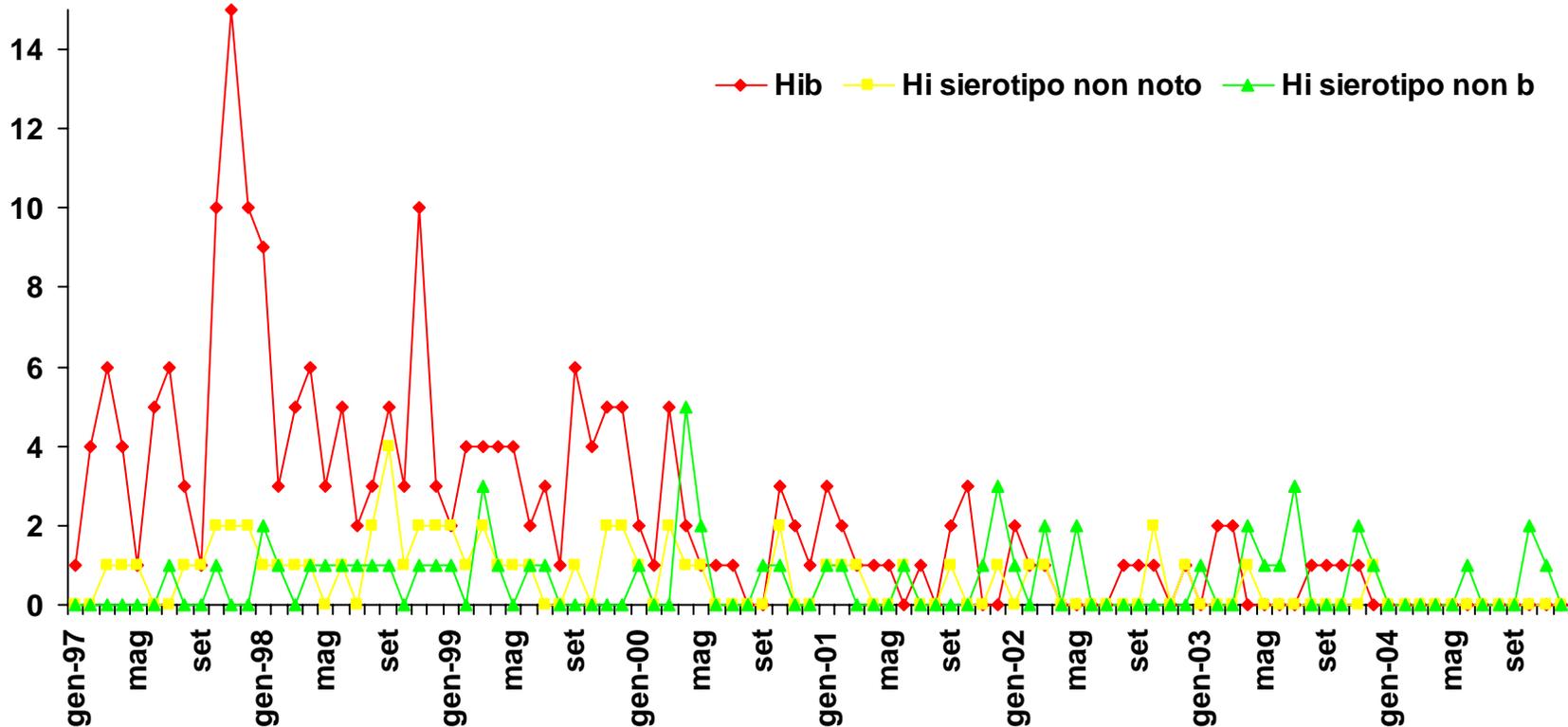
- **Sia ceppi non capsulati che ceppi capsulati diversi dal b possono causare infezioni invasive**
- **Non hanno stagionalità, e colpiscono soprattutto anziani o immunodepressi ma anche bambini**
- **Nelle nazioni che hanno introdotto la vaccinazione antiHib, queste sono più frequenti delle infezioni invasive da Hib**

# **Sorveglianza attiva delle infezioni invasive da *H. influenzae* (1997-2004)**

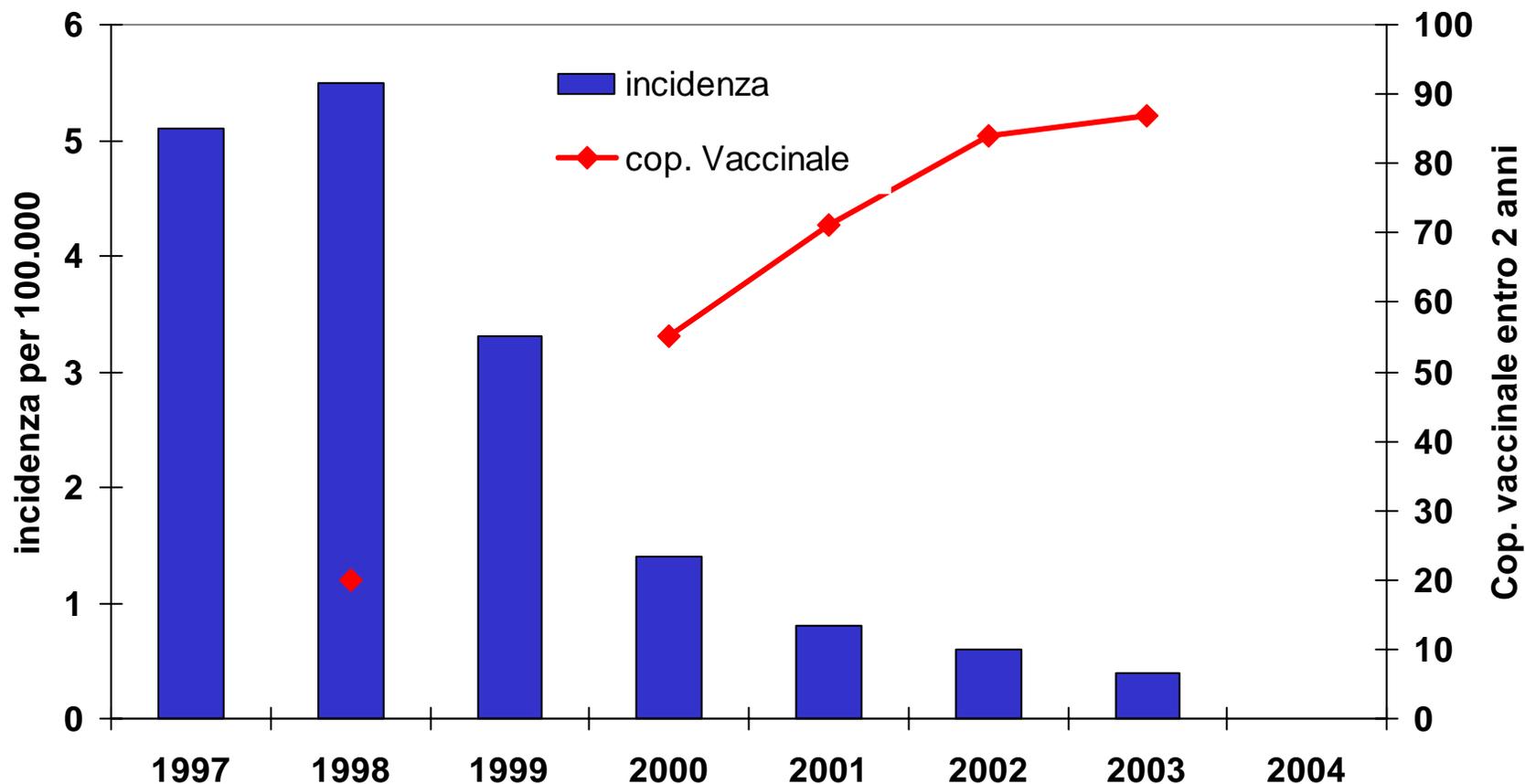
- **Tutte le infezioni invasive causate da Hi di tutti i tipi capsulari e non capsulato.**
- **Sei regioni ed una provincia autonoma, 170 laboratori.**
- **Verifica mensile dei casi.**
- **Invio dei ceppi isolati all' ISS.**
- **Tipizzazione capsulare mediante PCR.**
- **Annualmente incrocio dei dati con altre fonti disponibili.**

# Sorveglianza attiva delle infezioni invasive da *Haemophilus influenzae*

## N. casi segnalati per mese 1997-2004

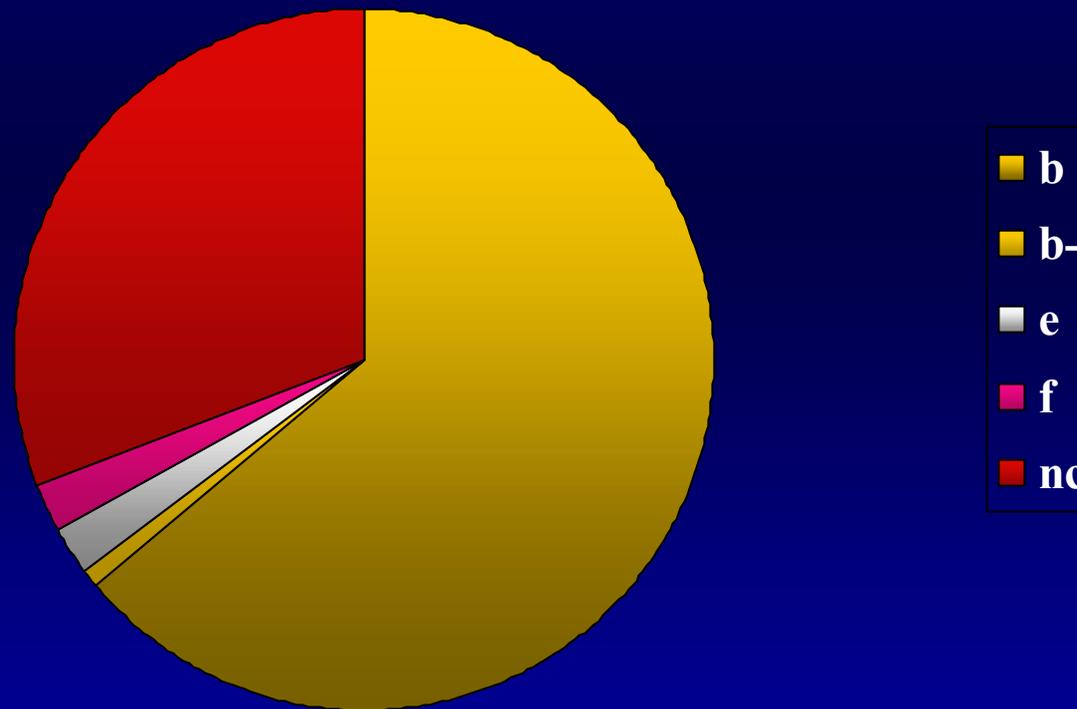


# Incidenza delle infezioni invasive da *Hib* < 5 anni e copertura vaccinale; 1997-2004



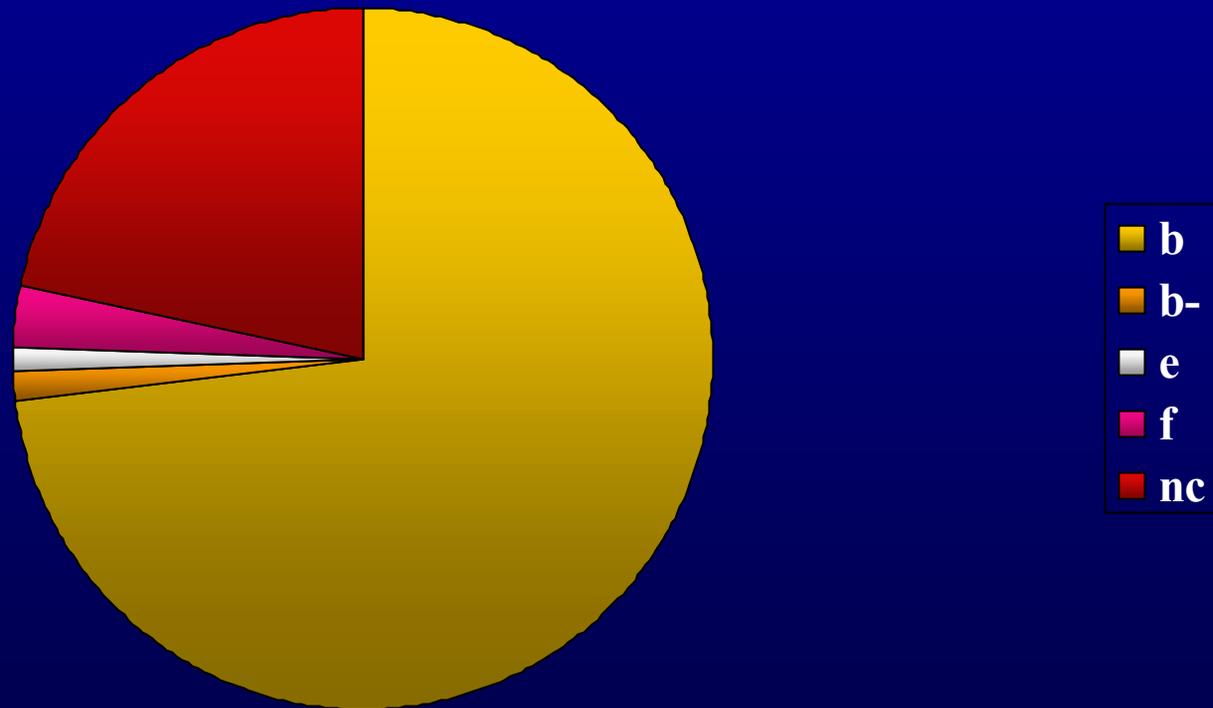
# Tipizzazione capsulare mediante PCR

## Distribuzione per sierotipo di 229 ceppi isolati da malattie invasive



# Tipizzazione capsulare mediante PCR

## Distribuzione per sierotipo di 78 ceppi isolati da meningite



# Confronto tra la sierotipizzazione mediante agglutinazione su vetrino e la tipizzazione capsulare mediante PCR

**sierotipizzazione**

225ceppi

158 tipo b

1 tipo a

1 tipo d

4 tipo e

5 tipo f

56 n.t.

**PCR**

145 tipo b

2 tipo b-

13 n.c.

1 n.c.

1 n.c.

3 tipo e

1 n.c.

5 tipo f

53 n.c.

2 tipo b

1 tipo e

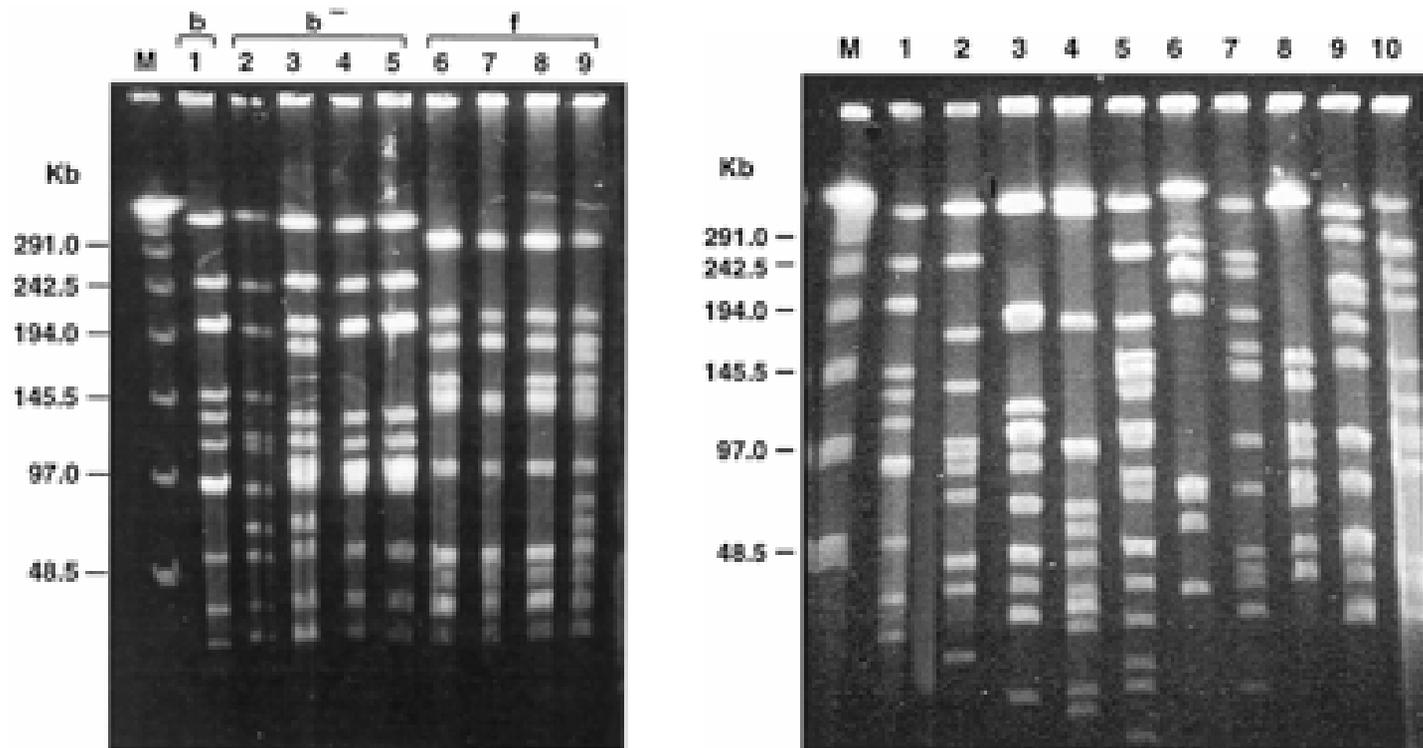
n.t. = non tipizzabile

n.c. = non capsulato

# Caratteristiche dei pazienti con infezioni invasive in relazione al sierotipo capsulare 1997-2004

	Hib	Hi non b
% meningite	65,6	33,3
Età mediana (range)	12 mesi (0 mesi-83 anni)	62,5 anni (1-98 anni)
% maschi	60	37
% letalità	2	17

# Tipizzazione molecolare mediante PFGE di ceppi di *Haemophilus influenzae*



Da Cerquetti M. et al. J Clin Microbiol. 2000, 38:4649-52

# Sensibilità agli antibiotici

- **Ampicillina**: il 10,2% dei ceppi è risultato resistente. Percentuale resistenti: **6,9%** nel 1997/98 al **15.4 %** nel 2000/2001 al **19%** nel 2002/2003.
- **Cloramfenicolo**: 97% ceppi sensibili.
- **Ciprofloxacina**: 100% ceppi sensibili.
- **Azitromicina**: marcata riduzione di attività della molecola.  $MIC_{90}$  (4,0%mg/L) corrisponde al breakpoint.

# Ceppi ampicillina-resistenti

- Sierotipo capsulare: Hib 13/107 (12,1%), NC 5/59 (8,4%).
- Isolati da: **Liquor** 14/97 vs. altri siti sterili 4/79  $p=0,04$ .
- Tutti produttori di  **$\beta$ -lattamasi**.  $\beta$ -lattamasi di tipo TEM o ROB?
- Tutti possedevano il gene ***bla*<sub>TEM</sub>** ma non il gene ***bla*<sub>ROB</sub>**.
- L'analisi PFGE ha evidenziato scarsa omologia genetica tra i ceppi ampicillina resistenti.
- Tutti **sensibili** a **cefotaxime** ( $MIC_{50}$  e  $MIC_{90} = 0,016$  mg/L) ed **imipenem** ( $MIC_{50} = 1,5$  mg/L,  $MIC_{90} = 3,0$  mg/L).

# L'indagine dei casi nei vaccinati

- Sono stati indagati tutti i casi di infezione invasiva da Hib insorti in soggetti precedentemente vaccinati, indipendentemente dal numero di vaccinazioni effettuate.
- Analizzato il siero acuto e convalescente, ed identificato il numero di copie del locus *cap b* nel ceppo.

# Fallimenti vaccinali

Ceppo	Anno	Regione	Età (mesi)	Diagnosi	Dosaggio IgG anti-PRP (µg/ml) (minimo 0,15/ 1)	No. copie cap b
Hi 193*	2000	Pr.Trento	3	meningite		2
Hi 203	2001	Friuli	36	meningite	Acuto: -- Conv.: 3,43	2
Hi 214	2001	Pr. Trento	48	meningite	Acuto: <b>0,09</b> Conv. : 56,8	<b>4</b>
Hi 227*	2002	Liguria	5	cellulite		<b>3</b>
Hi 229	2003	Veneto	11	meningite		<b>3</b>
Hi 237	2003	Veneto	11	cellulite	Acuto: <b>0,55</b> Conv.: <b>0,31</b>	<b>5</b>

## *H. influenzae* di tipo e

- In letteratura sono riportati pochissimi casi di meningite da Hie.
- In Italia: mai segnalati casi di malattia da tipo e prima del 2000.
- 5 ceppi isolati nel 2000 - 2001 (adulti, 2 con meningite)
- 1 ceppo nel 2003 (bambina di 5 mesi, con meningite).
- Tipizzazione capsulare mediante PCR: tipo e.
- Sensibilità all'ampicillina: MIC comprese tra 0,125µg/ml-0,25µg/ml.
- PFGE: individuati 2 distinti gruppi clonali.
- N° di copie del locus cap e: 1 copia.

# Conclusioni (1)

- Dal 1998 al 2004 la copertura vaccinale è rapidamente aumentata, raggiungendo l' 87%.
- L'incidenza di malattia da Hib nei bambini  $\leq 5$  anni è in netta diminuzione.
- La frequenza di malattia invasiva da Hi  $\neq$  dal b ha superato quella di malattia da Hib (soggetti adulti immunodepressi ma anche bambini).
- L'incidenza di resistenza all'ampicillina dovuta alla produzione di  $\beta$ -lattamasi si è triplicata dal 1998 al 2003.
- Dal 1999 si è osservato un incremento nella frequenza d'isolamento di ceppi Hib con copie multiple del locus *cap b*.

## Conclusioni (2)

- **Controllare la circolazione di ceppi di Hi non prevenibili mediante vaccinazione (capsulati  $\neq$  dal b e di non capsulati).**
- **Indagare il numero di copie del locus *cap b* tra i ceppi Hib circolanti in Italia.**
- **Monitorare con attenzione casi di malattia da Hib in soggetti vaccinati, identificando eventuali fattori di rischio.**
- **Indagine nazionale sui fallimenti vaccinali.**

# Sorveglianza delle Malattie Invasive da *Haemophilus influenzae*

## Dip. MIPI

- Marina Cerquetti
- Maria Giufrè
- Rita Cardines
- Tonino Sofia
- Paola Mastrantonio

## CNEPS

- Marta Luisa Ciofi degli Atti
- Susanna Lana

**Regione Piemonte:** Angela Ruggenini Moiraghi, Annalisa Castella, Carla Zotti.

**Provincia Autonoma di Trento:** Valter Carraro, Iole Caola.

**Regione Veneto:** Antonio Ferro.

**Regione Liguria:** Pietro Crovari, Giorgio Lepratto, Marina Lemmi.

**Regione Toscana:** Paolo Bonanni, Alessia Tomei, Patrizia Pecile, Emanuela Balocchini, Licia Pecori.

**Regione Campania:** Renato Pizzuti, Vittorio Pagano.

**Regione Puglia:** Salvatore Barbuti, Maria Chironna.