

Morbo di Parkinson. - L'elevata specificità, durata e continuità del trattamento del morbo di Parkinson hanno permesso di utilizzare le prescrizioni di farmaci antiparkinsoniani come traccianti della patologia. La stima della prevalenza è risultata pari a 174 per 100 000 abitanti. Sulla base di oltre 10 000 soggetti identificati nello studio di prevalenza si è condotta un'indagine per confrontare la mortalità, per tutte le cause, dei parkinsoniani con quella della popolazione di Roma nel periodo 1987-1994. Dalla conclusione di questa indagine emerge una più alta mortalità (11%) in questi soggetti rispetto alla popolazione generale. Un dato particolarmente interessante è quello relativo ad una consistente riduzione di mortalità (50%) per le cause connesse con i tumori. Per quest'ultimo aspetto si sta concludendo una specifica ed approfondita analisi.

Malattie infiammatorie intestinali croniche (MIIC). - Utilizzando quale tracciante di patologia l'uso di farmaci specificamente indicati nel trattamento delle MIIC (sulfasalazina e mesalazina), è stato effettuato uno studio di prevalenza di queste condizioni in una USL di Roma con una popolazione di riferimento di 133 000 abitanti. Sulla base dei profili individuali di prescrizione è stata valutata in 127 per 100 000 la prevalenza annua di queste condizioni.

Studi sulle reazioni avverse ai farmaci e sulla valutazione del profilo beneficio rischio

Le principali attività di ricerca inerenti la sicurezza dei farmaci hanno riguardato sia studi formali di epidemiologia eziologica, mirati a confrontare il rischio di reazioni avverse tra farmaci utilizzati per indicazioni simili, sia studi di farmacovigilanza finalizzati a quantificare la frequenza degli eventi di reazioni avverse da farmaco nella popolazione. Le attività hanno riguardato:

Studio della frequenza di ricoveri ospedalieri come conseguenza di reazioni avverse ai farmaci. - Obiettivo dello studio è stato quello di valutare l'incidenza e le cause di ospedalizzazione legate all'uso dei farmaci. Per questa finalità sono state prese in esame tutte le prestazioni effettuate nei primi sette giorni del mese, da ottobre 1994 a ottobre 1995, presso il Pronto soccorso dell'Ospedale "S. Carlo Borromeo" di Milano, identificando tra le oltre 5000 visite e i circa 2000 ricoveri effettuati nell'anno, quelli correlati all'uso dei farmaci (reazioni avverse, interazioni, non compliance, sovradosaggi, ecc.). Delle 5497 visite effettuate durante i 12 mesi di studio, 235 (4,3%) sono risultate correlate all'uso di farmaci; di queste il 19% è stato seguito da ricovero.

La valutazione del rischio di lesioni gastroduodenali legate all'uso dei farmaci anti-infiammatori non steroidei (FANS). - Per questo aspetto sono stati condotti due studi epidemiologici: uno di tipo caso-controllo e l'altro di coorte. La popolazione del primo studio era formata da 600 pazienti ambulatoriali con una diagnosi endoscopica confermata di ulcera o erosione nel 1991 e 1992 e da 6000 controlli di popolazione appaiati per età e sesso. Gli utilizzatori di FANS mostrano un aumento del 30% di lesioni gastrointestinali. Tra tutti i FANS il Ketorolac mostra un rischio marcatamente più elevato di lesioni (OR = 4,2; IC 95% = 1,9-9,4). Nel secondo studio sono stati arruolati oltre 200 000 soggetti residenti nella regione dell'Umbria che risultavano aver utilizzato FANS nel periodo 1993-1994. Per questi soggetti sono stati indagati, con tecniche di *record-linkage*, tutti gli episodi di ricovero ospedaliero per ulcera. Anche in questo studio è stato evidenziato un elevato rischio legato all'uso di questi farmaci

(RR = 2,8). In particolare il Piroxicam e il Ketorolac sono risultati essere tra i più gastrolesivi. (Questa linea è stata in parte finanziata anche attraverso una convenzione tra Istituto Superiore di Sanità e Regione Umbria).

Confronto dell'incidenza di epatopatie acute fra assuntori di amoxicillina ed amoxicillina con acido clavulanico. - Negli ultimi anni, a seguito di segnalazioni di reazioni avverse, è stata avanzata l'ipotesi di un maggior rischio di danno epatico associato all'uso di farmaci contenenti la combinazione di amoxicillina e acido clavulanico rispetto all'uso della sola amoxicillina. E' stato, quindi, avviato uno studio di coorte nella regione Friuli-Venezia Giulia riguardante 126 304 soggetti, che ha consentito di valutare come sovrapponibile l'incidenza di tali eventi negli assuntori di questi due farmaci.

Valutazione del possibile ruolo causale dell'assunzione di farmaci nell'insorgenza di leucemie acute. - Le conoscenze attualmente disponibili circa un possibile rapporto fra uso di farmaci e insorgenza di leucemie sono molto limitate. Al fine di valutare il rapporto fra uso di farmaci e insorgenza di leucemie acute è stato condotto uno studio caso-controllo nell'area di Roma. I pazienti inclusi nello studio sono stati reclutati tra i soggetti con diagnosi di leucemia acuta segnalati al Registro nazionale del gruppo GIMEMA. Fra i farmaci sospettati di causare leucemie acute, gli utilizzatori di alte dosi di cloramfenicolo presentano un OR di 1,8 (IC 95% = 0,6-5,3). Fra le altre categorie di farmaci che presentano un incremento degli OR, sebbene statisticamente non significativo, si osservano gli antidepressivi triciclici (OR = 1,7; IC 95% = 0,8-3,4) e i contraccettivi orali (OR = 1,8; IC

95% = 0,8-4,0). Fra gli utilizzatori di alte dosi di FANS si osserva invece una riduzione nell'incidenza di leucemie acute (OR = 0,5; IC 95% = 0,3-0,95).

La realizzazione di un sistema di sorveglianza delle reazioni avverse nei bambini. - Tale sistema è stato realizzato tramite una rete informatica collegante 33 pediatri di base che hanno inviato settimanalmente in Istituto i dati relativi a tutte le reazioni avverse a farmaci da loro osservate. La popolazione di riferimento è di circa 25 000 bambini (120 000 contatti /anno). In 12 mesi di attività sperimentale sono state raccolte oltre 300 osservazioni di eventi avversi relativi all'uso di 40 sostanze diverse.

Sviluppo di sistemi informativi nell'area della farmacoepidemiologia

Le attività principali in questa area hanno riguardato: la partecipazione a un lavoro collaborativo per la realizzazione di una banca dati relativa alle dosi definite giornaliere (DDD) per i farmaci registrati in Italia; lo sviluppo di un sistema software per l'interrogazione delle banche dati delle DDD; lo sviluppo di un software per la gestione dei Registri USL (registri relativi alla sorveglianza dei pazienti trattati con farmaci che presentano strette limitazioni di concedibilità all'interno dell'SSN) e del controllo di validità delle prescrizioni soggette a tali registri.

Seminari, corsi e convegni

Tra le finalità del progetto vi era anche quella di stimolare un'efficiente disseminazione dei risultati ottenuti dagli studi epidemiologici a diverse categorie di operatori sanitari, sia a livello centrale sia periferico dell'SSN, e di prevedere specifiche attività di formazione per potenziare le capacità di intervento degli operatori sanitari

che svolgono la propria attività a livello locale (USL, regioni). A tal fine sono state organizzate le seguenti iniziative:

- Seminario "Il farmaco in Italia: un cambiamento culturale", maggio 1995.

- Workshop "Proposte per un piano nazionale di farmacovigilanza", luglio 1995.

- Corso introduttivo di Farmacoepidemiologia, novembre 1995.

- Seminario nazionale "I profili di sicurezza dei farmaci", dicembre 1995.

- Convegno nazionale su "Il profilo beneficio rischio della terapia ormonale sostitutiva in post-menopausa", febbraio 1996.

- Seminario su "Epatopatie da farmaci antiinfiammatori non steroidei", marzo 1996.

- Seminario su "Le reti per la raccolta e la condivisione della conoscenza scientifica e

sviluppo di una medicina basata sulla evidenza scientifica", maggio 1996.

- Workshop su "Il monitoraggio delle prescrizioni farmaceutiche: il sistema Videofar", maggio 1996.

- Corso introduttivo di Farmacoepidemiologia, ottobre 1996.

- Convegno nazionale su "La valutazione dell'uso e della sicurezza dei farmaci: esperienze in Italia", dicembre 1996.

Risultati

Complessivamente l'insieme delle attività precedentemente descritte hanno dato origine a 16 articoli (6 su riviste italiane e 10 su riviste a livello internazionale) e a 22 comunicazioni a congressi, di cui 6 italiani e 16 internazionali.

3.1.12 Programmi di verifica e revisione di qualità dell'assistenza sanitaria e delle iniziative volte all'accreditamento delle strutture sanitarie

In questo resoconto sulle attività svolte nell'ambito del progetto si userà il termine "miglioramento continuo di qualità" (MCQ) in quanto più appropriato per indicare le attività che solo pochi anni fa venivano denominate con il termine "verifica e revisione di qualità" (VRQ).

Il progetto si è articolato in tre sotto-progetti: 1) Censimento delle attività di MCQ svolte nelle aziende sanitarie italiane; 2) Promozione di programmi di accreditamento volontario professionale; 3) Collaborazione al progetto TRiPSS (trasferire i risultati della ricerca nella pratica dei servizi sanitari) dell'Istituto "Mario Negri" per la diffusione di linee guida professionali.

Si fa presente che, per difficoltà di gestione amministrativa, i fondi sono risultati disponibili soltanto da alcuni mesi e attualmente risultano tutti impegnati.

Censimento delle attività di MCQ svolte nelle aziende sanitarie italiane

E' stato messo a punto un articolato questionario per rilevare le attività di miglioramento continuo di qualità, con particolare riguardo per: la costituzione e dotazione dell'Ufficio di miglioramento continuo di qualità; lo sviluppo di indicatori di qualità; la predisposizione di linee guida per l'effettuazione di progetti di miglioramento continuo di qualità; il collegamento tra attività di qualità e qualità percepita e il coordinamento tra ufficio di qualità e URP (Ufficio di relazione con il pubblico).

Il questionario è stato formulato in modo da ottenere un impatto formativo, allo scopo di suggerire l'organizzazione delle atti-

vità di miglioramento continuo di qualità raccomandate in questo momento dalla letteratura internazionale (ad es. comitati considerati indispensabili, infezioni ospedaliere, uso del sangue, razionalizzazione dell'uso dei farmaci, dotazione minima della biblioteca, collegamento della biblioteca a banche dati per l'accesso dei professionisti sanitari a banche dati sull'efficacia degli interventi sanitari, ecc.).

E' stata avviata la rilevazione a cui attualmente hanno risposto circa 60 aziende. E' in prossimo allestimento il programma di archiviazione e di elaborazione automatica, che prevede, tra l'altro, la costituzione di una banca dati relativa ai responsabili degli uffici di qualità, degli uffici di relazioni con il pubblico, degli uffici epidemiologici e delle biblioteche.

Promozione di programmi di accreditamento volontario professionale

Con il DPR 14 gennaio 1997 (G.U. 20 febbraio 1997, n. 42) sono stati stabiliti i requisiti minimi di accreditamento; attualmente le varie regioni stanno lavorando per adattare questi requisiti alle loro realtà e sono iniziate le prime sperimentazioni di applicazione.

Il programma di accreditamento, che è oggetto di questa ricerca, è collegato all'accreditamento precedente, benché miri essenzialmente a obiettivi di tipo formativo, e prevede una partecipazione, non di intere organizzazioni, ma di volontari e gruppi di professionisti operanti nello stesso campo. Il programma riprende e incorpora iniziative già in corso da parte della Società italiana per la verifica e revisione di qualità.

Sono stati affidati incarichi per l'elaborazione di manuali di accreditamento e l'effettuazione delle cosiddette visite di consulenza reciproca nei seguenti ambiti: dipartimento

di emergenza; servizi di ecografia; centri di formazione; residenze per anziani non autosufficienti; case alloggio per malati di AIDS.

A tale scopo è già stata elaborata o è in fase avanzata di elaborazione la prima bozza del manuale di qualità, suddiviso nei seguenti capitoli: organizzazione generale; attività di miglioramento continuo di qualità; caratteristiche particolari dell'assistenza; personalizzazione e umanizzazione dell'assistenza; sistema informativo. Data la natura del tema, il manuale per la formazione si discosta da questo schema ed è suddiviso nei seguenti capitoli: organizzazione generale; miglioramento continuo di qualità e valutazione; applicazione degli aspetti metodologici; applicazione degli aspetti di contenuto.

Si tratta di manuali, in particolare quello relativo alle attività di formazione, ad alto impatto formativo. Il manuale è redatto sotto forma di questionario a cui i singoli centri partecipanti sono invitati a rispondere prima della visita da parte dei colleghi. Molte domande riguardano, quindi, attività e aspetti organizzativi, che si sa già essere applicati soltanto in modo minimo nel nostro paese, ma di cui è utile che i partecipanti vengano a conoscenza per poterne programmare l'applicazione futura. La visita ha solo lo scopo di verificare se le risposte siano state omogenee rispetto a quelle date in situazioni simili, di mettere in luce i punti di forza delle varie realtà in modo da promuoverne la diffusione e di formulare alcune raccomandazioni sui metodi per migliorare eventuali punti di debolezza.

Va notato che non tutte le visite dovranno essere multidisciplinari con rappresentanze non solo mediche, ma anche infermieristiche e amministrative. Tra gli impegni richiesti ai gruppi di lavoro c'è anche quello di effettuare in doppio alcune visite

in modo da poter verificare la riproducibilità del rispetto dei requisiti da parte di equipe di visitatori diverse.

Collaborazione al progetto TRiPSS dell'Istituto "Mario Negri" per la diffusione di linee guida professionali

In questo settore l'Istituto ha voluto essere un'unità partecipante al progetto TRiPSS promosso dall'unità di epidemiologia clinica dell'Istituto "Mario Negri" e dal Centro italiano Cochrane che fa capo a tale unità. Si tratta di un progetto destinato: a mettere a disposizione delle unità partecipanti una banca dati di linee guida professionali elaborate internazionalmente, per lo più commentate criticamente; a promuovere l'attività di gruppi di lavoro nazionali che dovranno elaborare nuove linee guida basate il più possibile sulla cosiddetta *evidence based medicine*; a fornire prove scientifiche di efficacia degli interventi consigliati (come è noto le prove scientifiche o evidenze dipendono essenzialmente, anche se non esclusivamente, dai risultati degli studi controllati randomizzati e dalle relative metanalisi).

Finora i gruppi di lavoro attivati si sono occupati delle linee guida relative a: scompenso cardiaco, esami in gravidanza, esami preoperatori (un primo documento in questo campo è stato già formulato), terapia del carcinoma mammario.

L'ISS ha in questa iniziativa un ruolo essenzialmente di patrocinio e di incoraggiamento, che è stato svolto ospitando nel novembre 1997 tre giornate di lavori del gruppo TRiPSS, caratterizzate dalla partecipazione di direttori generali di aziende sanitarie, dal contributo di relatori stranieri prestigiosi nel campo della *evidence based medicine*, quali J. Grimshaw, R. Grol e J.A. Muir Gray, e dalla redazione di linee guida professionali.

3.1.13 Programma per il controllo e la sorveglianza di *Aedes albopictus* in Italia

Focolai di *Aedes albopictus*, la zanzara "tigre" importata in Italia con carichi commerciali di copertoni usati, sono attualmente presenti in forma sparsa in 10 regioni e 22 province del nostro paese. Ovunque la densità viene stagionalmente ridotta dagli interventi di controllo a livelli tali da non rappresentare più un problema sanitario e, in alcune aree, la specie è stata eradicata o comunque ridotta a livelli di non rivelabilità.

Nel corso delle operazioni di sorveglianza per *Ae. albopictus* è stata individuata per la prima volta in Italia una nuova specie, la zanzara nordamericana *Aedes atropalpus*, importata nel nostro paese dagli USA, sempre con partite di copertoni usati (focolaio unico in provincia di Treviso).

Le attività svolte hanno seguito le linee programmatiche e si sono articolate sui punti seguenti:

Coordinamento della rete di sorveglianza e diagnostica

E' stata creata una rete capillare di sorveglianza sul territorio nazionale mediante il coinvolgimento di unità operative appartenenti al Servizio sanitario nazionale o ad altre strutture pubbliche presso le quali sono state individuate le competenze necessarie allo svolgimento di detta attività. Queste unità operative, presenti sul territorio principalmente a livello locale, sono costituite in gran parte da nuclei operanti presso i servizi di prevenzione ed igiene pubblica delle aziende sanitarie locali o dei presidi multizonali di prevenzione. A livello regionale sono stati coinvolti tutti gli istituti zooprofilattici sperimentali ed alcuni osservatori epidemiologici. Danno infine la

loro collaborazione al programma di sorveglianza alcuni istituti universitari e sezioni dell'Agenzia per la protezione dell'ambiente.

Il flusso delle informazioni viene gestito dal centro di coordinamento del programma presso l'ISS. Detto centro provvede anche alla diagnosi di specie dei campioni raccolti sul campo dalle strutture non in grado di effettuare l'identificazione del materiale entomologico campionato.

Istituzione dei centri collaboratori

Oltre alla rete di sorveglianza di base si è ritenuto opportuno istituire tre centri collaboratori nelle regioni maggiormente interessate dal problema, la Liguria, la Lombardia e il Veneto, presso altrettanti istituti dove sono state individuate le richieste competenze. Nel 1996 e nel 1997 è stato possibile attivare i tre centri mediante opportune convenzioni.

Detti centri sono: per la Liguria il Museo civico di storia naturale di Genova "Giacomo Doria"; per la Lombardia l'Istituto zooprofilattico sperimentale della Lombardia ed Emilia-Romagna, con sede in Brescia; per il Veneto l'Istituto di entomologia agraria dell'Università di Padova.

I centri collaboratori sopra nominati fungono da organi tecnici dei rispettivi assessorati regionali alla sanità (servizi di igiene pubblica) e da tramite tra l'ISS e questi ultimi. Essi forniscono consulenza scientifica alle aziende sanitarie locali per il controllo di *Ae. albopictus* e coordinano l'attività di sorveglianza a livello regionale. In particolare, effettuano una sorveglianza capillare dei focolai d'infezione già conosciuti, con mappatura delle colonie presenti sul territorio della regione, eseguono il monitoraggio dell'eventuale diffusione della specie e verificano periodicamente i livelli di densità delle alate. Provvedo-

no, inoltre, alla individuazione di nuovi focolai, mediante ricerca attiva e censimento delle aree "a rischio", quali depositi di copertoni, di rottamazione auto, ecc.

Produzione di linee guida per la sorveglianza e il controllo di Ae. albopictus e produzione di sussidi tecnici audiovisivi

Sono state elaborate le linee guida per la sorveglianza e il controllo di *Ae. albopictus* in Italia, che si rivolgono agli operatori dell'SSN, fornendo loro le basi tecnico-scientifiche per la pianificazione, la realizzazione e la valutazione dei programmi di sorveglianza e controllo della zanzara.

E' stato realizzato un breve filmato intitolato "Conosciamo *Aedes albopictus*", nel quale vengono riportate le informazioni di base sulla biologia, ecologia, importanza sanitaria e sui metodi di controllo della zanzara tigre.

Valutazione dei livelli di sensibilità di popolazioni italiane di Ae. albopictus agli insetticidi

E' stata valutata mediante saggi di laboratorio la sensibilità di 5 popolazioni italiane di *Ae. albopictus*, sottoposte da circa 3 anni a trattamenti stagionali antilarvali con esteri fosforici. La popolazione proveniente da Genova e le due provenienti dalla provincia di Bologna hanno mostrato piena sensibilità al *temephos* e al *chlorpyrifos*, mentre le due popolazioni provenienti dalla provincia di Padova, pur rimanendo pienamente sensibili, hanno mostrato una lieve riduzione dei livelli di sensibilità, rispetto ad una popolazione saggiata nella stessa area nel 1992.

Inoltre, su richiesta di strutture locali collaboranti al programma, sono stati effettuati stagionalmente saggi di sensibilità agli insetticidi su popolazioni di *Ae. albopictus* intensivamente trattate con esteri fosforici.

Organizzazione di convegni

Rispettivamente in data 15 maggio 1996 e 12 giugno 1997 sono stati organizzati presso l'Istituto Superiore di Sanità il primo e il secondo Convegno su "Strategie per la sorveglianza ed il controllo di *Aedes albopictus*" ai quali hanno partecipato operatori dell'SSN, ricercatori e professionisti privati interessati al problema.

Corsi di formazione

Nell'ambito del corso su "Insetti ed acari di interesse sanitario", che viene organizzato annualmente presso l'ISS dal Laboratorio di Parassitologia per 20 operatori dell'SSN, è stata inserita una sessione sulla biologia, ecologia, importanza sanitaria e sul controllo di *Ae. albopictus*.

Attività di consulenza

Il coordinatore del programma ha partecipato a numerose riunioni di lavoro e convegni presso le competenti strutture regionali, provinciali e locali delle regioni italiane interessate dal problema, fornendo l'opportuna consulenza tecnico-scientifica sull'elaborazione dei programmi locali di sorveglianza e controllo di *Ae. albopictus*.

Missioni

Nell'arco del triennio sono state effettuate circa 30 missioni in Italia e 5 all'estero con i fondi del programma. Durante tali missioni sono stati effettuati sopralluoghi sul campo ed è stato raccolto materiale entomologico per gli studi di laboratorio, svolgendo attività didattica, e partecipando a conferenze, congressi e riunioni di lavoro.

Attività di ricerca

Le attività di ricerca, ancora in corso di svolgimento, hanno riguardato i seguenti

temi: a) la definizione della capacità vettrice delle popolazioni italiane di *Ae. albopictus* in relazione alla suscettibilità all'infezione con arbovirus; b) la variabilità del DNA mitocondriale nelle diverse popolazioni italiane della zanzara tigre in relazione alla diversa origine geografica, attraverso l'identificazione e il sequenziamento di opportuni geni; c) gli effetti del rame metallico sullo sviluppo larvale.

Partecipazione a congressi

Risultati delle attività di sorveglianza e ricerca sono stati presentati ai seguenti congressi nazionali ed internazionali:

- IV Conferenza nazionale di medicina del turismo e della migrazione. Montecatini, 3-5 luglio 1995.

- European conference on tropical medicine. Amburgo, 22-26 ottobre 1995.

- XX International congress of entomology. Firenze, 25-31 agosto 1996.

- VII European multicolloquium on parasitology (EMOP). Parma, 2-6 settembre 1996.

- Giornata sulle strategie bio-ecologiche di lotta contro gli organismi nocivi. Sassari, 11 aprile 1997.

- II International congress of vector ecology. Orlando (FL), 19-24 ottobre 1997.

3.1.14. Progetto pilota per il controllo della leishmaniosi viscerale in Italia

Questo progetto è stato gestito come "Azione coordinata di ricerca" che ha coinvolto strutture sanitarie della Campania, prescelta come area pilota a causa della recente recrudescenza di leishmaniosi viscerale umana verificatasi in questo territorio.

Il progetto si è articolato nelle tre linee principali di intervento previste: 1) Sorveglianza attiva della leishmaniosi viscerale umana; 2) Controllo del serbatoio canino; 3) Studio sui flebotomi vettori.

Sorveglianza della leishmaniosi viscerale umana

Questa parte del progetto si è integrata con un programma in corso da alcuni anni e promosso dall'Assessorato alla sanità della regione Campania. Ciò ha permesso di intensificare e rafforzare le attività di sorveglianza attiva nelle aree sotto studio.

Brevemente, queste sono consistite in:

Educazione sanitaria. - Sono stati prodotti opuscoli informativi, distribuiti nelle scuole, ambulatori ASL e ambulatori veterinari.

Centralizzazione della diagnosi clinica. - E' stata favorita l'affluenza di pazienti con febbre n.n.d. in tre appositi centri di consulenza, uno pediatrico e due infettivologici.

Centralizzazione della diagnosi di laboratorio e controllo di qualità. - E' stata creata una "via preferenziale" nelle diagnosi parassitologiche e sierologiche, effettuate entro le 24 ore, e controllate dal laboratorio di riferimento presso l'ISS.

Miglioramento della terapia. - E' stata favorita l'applicazione di protocolli terapeutici altamente efficaci e atossici.

Sono stati diagnosticati 157 casi di malattia, dei quali circa il 50% in età pediatrica.

Oltre la metà dei casi si è verificata in comuni dell'area vesuviana. Non si è verificata mortalità per ritardo di diagnosi né a seguito di trattamento terapeutico. A questo proposito, va detto che il 70% circa dei pazienti è stato trattato con farmaci innovativi, altamente efficaci e di scarsa tossicità.

Presso l'ISS sono stati analizzati mediante tecniche biochimiche numerosi ceppi di *Leishmania* responsabili della malattia. Questi hanno mostrato l'appartenza a due popolazioni di *L. infantum*, zimodemi MON 1 e MON 72, a differente distribuzione geografica. In particolare, lo zimodema MON 72 è risultato prevalente nei comuni dell'area vesuviana.

Controllo del serbatoio canino

Questo aspetto ha costituito la parte più consistente del programma, essendo rivolto al controllo primario della malattia nell'area pilota. Nel marzo 1996 è stata stipulata una convenzione tra l'ISS e l'Istituto zooprofilattico sperimentale (IZS) del Mezzogiorno con sede a Portici, mediante la quale sono state fornite attrezzature e personale veterinario mediante contratto.

Le zone pilota di controllo, scelte sulla base di considerazioni di ordine epidemiologico e geografico, sono state cinque, comprese nei comuni vesuviani di S. Sebastiano al Vesuvio, S. Giorgio a Cremano, S. Anastasia, Pollena-Trocchia e Massa di Somma. Il progetto è stato presentato ai responsabili medici e veterinari delle ASL competenti. Questi ultimi hanno fornito i dati relativi alla popolazione canina sottoposta a regolare iscrizione all'anagrafe e i sindaci di tre comuni hanno disposto l'affissione di manifesti con indicazione dell'obbligo di iscrizione all'anagrafe canina e di sottoporre i cani a controllo per la leishmaniosi. La gestione dei cani randagi è risultata più complessa.

Fino al 30 ottobre 1997, sono stati controllati mediante diagnosi clinica e sierologica 2064 cani padronali. Di questi, 443 sono risultati positivi (21,5%). I dati relativi alle cinque aree pilota sono riportati in Tabella 14.

Per ciascun cane sono stati raccolti i dati clinici ed anamnestici, inseriti in un'apposita banca di dati. Tutti i cani asintomatici o con sintomatologia lieve sono stati trattati con un apposito protocollo terapeutico che, anche se non risolutivo, permette una prolungata latenza parassitologica. Per i cani gravemente ammalati è stata suggerita l'eutanasia.

Un monitoraggio sui cani randagi è stato effettuato presso canili privati convenzionati di S. Anastasia e Torre del Greco. Sono stati controllati 441 soggetti, di cui 130 risultati positivi (29,5%).

Anche per il cane sono stati analizzati presso l'ISS numerosi ceppi di *Leishmania* responsabili della malattia, e anche in questo caso i parassiti sono risultati appartenere ai due zimodemi di *L. infantum*, MON 1 e MON 72, già isolati da casi umani di leishmaniosi.

Con l'intento di ottimizzare le procedure diagnostiche nel senso della specificità, sensibilità e rapidità di esecuzione, nei mesi da luglio a ottobre 1997 l'IZS di Portici ha partecipato ad uno studio multicentrico per la standardizzazione della tecnica ELISA

con un nuovo antigene ricombinante messo a disposizione da un istituto di ricerca di Seattle, USA. Nello studio, coordinato dall'ISS, sono stati comparati i risultati ottenuti con immunofluorescenza ed ELISA su oltre 1500 sieri.

Studio sui flebotomi vettori

La distribuzione delle specie di flebotomi presenti nel territorio sotto controllo, e la conseguente incriminazione della specie vettrice di leishmaniosi umana e canina nell'area (*Phlebotomus perniciosus*), erano stati già oggetto di studio in un precedente programma di ricerca. Nel passato triennio l'attenzione si è focalizzata sull'individuazione di marcatori genetici per popolazioni geografiche di questa specie.

E' stata allestita, e tuttora mantenuta presso l'insettario dell'ISS, una colonia di *Ph. perniciosus* ottenuta da femmine della specie catturate in focolai di leishmaniosi viscerale dell'area vesuviana.

Successivamente è stata intrapresa una ricerca per studiare, mediante tecniche molecolari, questa popolazione di *Ph. perniciosus* e quelle di altri focolai di leishmaniosi viscerale in Italia. In modo particolare, si è proceduto a valutare marcatori genetici mitocondriali che rappresentano un efficace approccio molecolare negli studi filogenetici. Sono state

Tabella 14. - Controlli sulla popolazione canina nelle aree pilota

Comune	Cani esaminati N.	Cani positivi N.	%
S. Giorgio a Cremano	880	67	7,6
S. Sebastiano al Vesuvio	440	122	27,7
S. Anastasia	338	106	31,6
Pollena-Trocchia	211	80	37,9
Massa di Somma	195	68	34,8

quindi sequenziate tre regioni dei geni mitocondriali 12S rRNA, 16S rRNA e COI di *Ph. perniciosus*.

E' stato estratto DNA esclusivamente da maschi adulti, singolarmente o in "pool". L'isolamento e l'amplificazione delle sequenze bersaglio dal DNA mitocondriale sono stati possibili attraverso la reazione di polimerizzazione a catena (PCR). I frammenti amplificati sono stati clonati mediante i plasmidi pCR-II e le cellule competenti INV F', e successivamente sequenziati mediante il metodo enzimatico di Sanger.

Le sequenze di DNA ottenute sono state inizialmente allineate e confrontate con sequenze omologhe di altri nematoceri mediante un apposito programma (CLUSTAL) inserito nel pacchetto di analisi PCGENE. Le relazioni filogenetiche sono state ottenute mediante UPGMA, metodo basato sulle distanze genetiche. I risultati ottenuti finora indicano che ulteriori studi relativi ai marcatori genetici mitocondriali possono consentire non solo di risolvere affiliazioni genetiche tra i nematoceri, ma di studiare la struttura di popolazioni e le relazioni filogenetiche nell'ambito dei flebotomi.

3.1.15 Studio multicentrico nazionale per il monitoraggio clinico-epidemiologico della malattia di Creutzfeldt-Jakob e sindromi correlate

L'Istituto Superiore di Sanità ha istituito con decorrenza 1° gennaio 1993 il "Registro nazionale della malattia di Creutzfeldt-Jakob e sindromi correlate", al fine di creare un osservatorio epidemiologico nazionale. Tale iniziativa fa parte di una "concerted action" della UE e si propone di raccogliere un patrimonio di dati, vasto e omogeneo, per una corretta valutazione epidemiologica di questa patologia.

A tale scopo sono stati contattati 331 centri neurologici nazionali (cliniche universitarie, divisioni ospedaliere e case di cura convenzionate), cui sono state inviate schede di facile compilazione per la segnalazione dei casi di malattia di Creutzfeldt-Jakob (CJD) osservati.

Oltre a questa iniziativa, molto importante dal punto di vista epidemiologico e di competenza istituzionale dell'Istituto, è stato attivato uno studio caso/controllo in collaborazione con 4 centri neurologici nazionali che svolgono il ruolo di centri di riferimento territoriali.

Successivamente alla segnalazione di ogni nuovo caso, il Laboratorio di Virologia provvede ad organizzare, tramite il centro clinico di riferimento nazionale competente per il territorio della segnalazione, le interviste valide per lo studio caso/controllo, inviando un proprio medico presso il reparto dell'ospedale dal quale proviene la segnalazione.

Contemporaneamente si organizza il trasporto di un prelievo ematico e del liquido cefalo rachidiano (LCR) del paziente presso il Laboratorio di Virologia dell'ISS. Dal sangue si effettua l'indagine genetica, lo

screening delle mutazioni note del gene della proteina prionica (PRNP) mediante digestione del gene amplificato attraverso la reazione polimerasica a catena con enzimi di restrizione, necessaria per evidenziare eventuali mutazioni presenti nei casi di CJD di tipo familiare o di malattia di Gerstmann-Sträussler-Scheinker. Inoltre, dove necessario, viene sequenziato il gene PRNP con il metodo Sanger per la ricerca di mutazioni non ancora conosciute. Un campione di LCR viene testato, mediante "western blot", per la presenza della proteina 14-3-3 per valutare se questo esame possa in futuro essere usato per la diagnosi differenziale tra la CJD e le altre forme neurodegenerative.

In caso di decesso di un paziente con sospetto clinico di CJD si organizza il trasporto del materiale biologico, prelevato in corso di autopsia, presso il Laboratorio di Virologia, dove si provvede ad organizzare le indagini diagnostiche indispensabili per una corretta classificazione diagnostica della malattia. Infatti la diagnosi di CJD può essere definitiva solo se confermata da un'indagine biochimica (identificazione della PrP₂₇₋₃₀ mediante "western blot" su campione di tessuto cerebrale congelato) o istopatologica (presenza di spongiosi, gliosi, perdita neuronale all'esame di un campione di tessuto cerebrale fissato in formalina).

Per acquisire ulteriori informazioni utili per lo studio della caratteristica che queste patologie mostrano manifestandosi come patologie infettive o come patologie genetiche, in alcuni casi di particolare interesse e con diagnosi clinica confermata (specialmente casi familiari con presenza di mutazioni a carico del gene della PrP), si procede al tentativo di trasmissione sperimentale della malattia mediante l'inoculazione di materiale biologico infetto in animali da laboratorio.

Per la trasmissione agli animali vengono utilizzati piccoli animali di laboratorio (topo, criceto). Il materiale biologico da testare viene preparato come omogenato in tampone fosfato sterile e inoculato sia per via intracerebrale (50 ml di inoculo), sia per via intraperitoneale (100 ml di inoculo) negli animali di laboratorio.

Nel periodo gennaio 1993 - ottobre 1997 al Laboratorio di Virologia sono arrivate dai vari centri neurologici nazionali 353 segnalazioni di casi con sospetto clinico di CJD. Di queste segnalazioni, 233 sono risultate compatibili con diagnosi di CJD, rilevando un'incidenza nazionale di circa 0,9 casi per milione di abitanti. L'indagine genetica effettuata sui casi dei quali è pervenuto un campione ematico ha evidenziato 36 casi legati ad alterazioni del gene *PRNP* e ha attivato uno studio delle singole famiglie.

Questi dati, che rispecchiano quelli di altri paesi europei, confermano l'ottimo lavoro fin qui svolto dal Laboratorio di Virologia, grazie alla preziosa e indispensa-

bile collaborazione di tutti i centri neurologici nazionali.

In seguito alla recente descrizione di una nuova variante della malattia di Creutzfeldt-Jakob (nv-CJD) in Inghilterra, per la quale esiste una correlazione con l'encefalopatia spongiforme del bovino (BSE), la sorveglianza epidemiologica di questa patologia sul territorio nazionale è diventata un importante argomento di sanità pubblica. Pertanto, oltre al potenziamento dell'esistente controllo epidemiologico della CJD in Italia, sono state attuate nuove strategie per consentire il pronto rilevamento di eventuali casi appartenenti alla nuova variante, attraverso il coinvolgimento di altre figure professionali (pediatri, neuropsichiatri infantili, anatomopatologi), e tramite una capillare informazione delle strutture sanitarie coinvolte sulle differenti caratteristiche cliniche, elettrofisiologiche e anatomopatologiche della nv-CJD.

Non sono stati, fino ad oggi, riscontrati casi di nv-CJD in Italia.

3.1.16 Valutazione dell'efficacia a lungo termine, dell'immunità cellulo-mediata, della prevenzione secondaria nei contatti familiari e della dose di richiamo dei vaccini acellulari contro la pertosse (Studio PROPER)

La sperimentazione clinica sui vaccini antipertosse (il progetto "Pertosse"), terminata recentemente in Italia, ha fornito una misura rigorosa dell'efficacia assoluta di tre vaccini antipertosse somministrati a bambini entro i 6 mesi di età in tre dosi. I due vaccini acellulari utilizzati, somministrati con una formulazione trivalente DTaP (prodotti uno da Chiron Biocine e un altro da SmithKline Beecham, entrambi contenenti PT, FHA e pertactina), si sono dimostrati altamente efficaci (ognuno all'84%) nel prevenire la pertosse clinica confermata con criteri di laboratorio, ed associati con una bassa frequenza di effetti collaterali. Al contrario, il vaccino a cellule intere utilizzato nello studio (prodotto dalla Connaught Laboratories) ha dimostrato una bassa efficacia (36%) ed è risultato associato ad una alta frequenza di effetti collaterali comuni e rari.

Sulla base di questi e di altri risultati dello studio, si prevede che i nuovi vaccini acellulari rimpiazzeranno in modo estensivo il vaccino a cellule intere per l'immunizzazione primaria verso la pertosse in tutto il mondo. Comunque, rimane da determinare quale sia la persistenza dell'elevata protezione clinica. Ciò è importante per formulare appropriate raccomandazioni sull'uso delle dosi di richiamo nei programmi vaccinali in Italia e in altri paesi. In attesa di ulteriori informazioni, le autorità sanitarie in molti paesi formuleranno tali raccomandazioni sulla base di ciò che viene eseguito da anni con il vaccino antipertosse a cellule intere. Le evidenze disponibili circa la du-

rata della protezione dalla pertosse nei bambini vaccinati con il prodotto a cellule intere sono contraddittorie, ma la maggior parte di esse suggerisce una diminuzione nel tempo.

La prima analisi dei dati del progetto "Pertosse" è stata effettuata per valutare l'efficacia assoluta dei vaccini nei bambini con età media di 23 mesi. Per questa analisi, la sorveglianza ha tenuto conto degli episodi di tosse con inizio fino al 31 dicembre 1994. Tale fase è stata chiamata "Stadio I" del progetto "Pertosse". Il periodo compreso tra il 1° gennaio 1995 e il 30 novembre 1995 è stato chiamato "Stadio II", ed è stato disegnato per esaminare l'efficacia relativa dei vaccini acellulari in condizioni ancora in cieco in un periodo di alta incidenza di pertosse, a livello nazionale. Nel 1996 le osservazioni sono proseguite con metodi inalterati, ma in condizioni non cieche. Tale prosecuzione dello studio è stata denominata "Stadio III" o studio PROPER.

La prosecuzione del progetto "Pertosse" nello "Stadio III" ha ricevuto l'approvazione etica del Comitato *ad hoc*, istituito pressol'ISS. Un *grant* dai National Institutes of Health statunitensi copre circa il 65% delle risorse necessarie alla conduzione dello studio. Il resto del finanziamento è stato richiesto all'ISS nel capitolo dei fondi 1% del 1996 (non ancora disponibili al 15 novembre 1997) e alle regioni partecipanti (una regione ha stipulato una convenzione con fondi 1996 e altre due per il 1997). L'attività del progetto viene documentata con rapporti trimestrali in lingua inglese, inviati a tutti i gruppi partecipanti. Ad oggi sono stati redatti 20 di tali rapporti tecnici.

La struttura generale per la raccolta dei dati e dei campioni biologici nello studio PROPER è stata mantenuta e riorganizzata nel 1996: in particolare, è stata mantenuta

la sorveglianza attiva continuativa della maggior parte dei bambini che hanno originariamente ricevuto uno dei vaccini antipertosse acellulari ed è stato ricostituito un gruppo di controllo di bambini non vaccinati che sono stati arruolati nello studio osservazionale, dopo verifica dell'assenza di anticorpi anti-tossina pertosse. Inoltre è stata avviata, dopo i risultati interessanti ottenuti durante il progetto "Pertosse", uno studio della valutazione della risposta immune cellulo-mediata nel tempo. Nella Tabella 15 è riportato il numero di bambini su cui è stata saggiata l'immunità cellulo-mediata.

E', inoltre, in corso uno studio di valutazione degli isotipi anticorpali nei bambini vaccinati.

L'analisi di efficacia dei vaccini viene eseguita periodicamente su osservazioni raccolte ad intervalli di nove mesi. L'inci-

denza della pertosse nel periodo 1996-1997 si è dimostrata molto limitata, nel rispetto delle previsioni effettuate secondo le quali, dopo il picco epidemico osservato nel 1995, il prossimo incremento nella circolazione di *B. pertussis* è atteso per il 1998. Le valutazioni di efficacia finora ottenute non si discostano molto da quelle già effettuate nelle precedenti fasi del progetto. Le analisi per età dei bambini in osservazione indicano che non è stato finora riscontrato un calo di efficacia, come evidenziato nella Tabella 16.

La raggiungibilità di tutti gli obiettivi del PROPER nei tempi previsti è stata recentemente valutata e sono state proposte alcune modifiche al protocollo operativo. Alla luce dei dati raccolti finora, si ritiene che l'obiettivo primario di valutare l'efficacia clinica di tre dosi di due vaccini antipertosse acellulari nei bambini in età prescolare possa essere raggiunto, così come la valutazione a

Tabella 15. - Numero di bambini studiati per l'immunità cellulo-mediata dopo vaccinazione primaria e durante lo studio PROPER

	DTaP CB ^a	DTaP SB ^b	DT	Totale
N. bambini iniziali	42	44	0 ^c	86
N. campioni	24	20	3 ^d	54

a) CB = Chiron Biocine; b) SB = SmithKline Beecham; c) Tutti i bambini DT inizialmente selezionati sono stati vaccinati nel 1995; d) Nuovi bambini DT arruolati nel PROPER e non vaccinati

Tabella 16. - Efficacia vaccinale per età

Età	DTaP SB ^a		DTaP CB ^b	
1	84,4	(76/90)	85,6	(76/90)
2	81,4	(75/86)	86,6	(81/91)
3	83,6	(78/88)	87,7	(83/91)
4	83,8	(78/88)	87,4	(83/91)

a) SB = SmithKline Beecham; b) CB = Chiron Biocine

lungo termine dell'efficacia relativa dei due prodotti DTaP, e della loro sicurezza. Al contrario, la valutazione dell'efficacia clinica di una dose di richiamo di vaccino acellulare non appare attuabile, visto lo scarsissimo numero di bambini che hanno finora effettuato una dose di richiamo su consiglio del proprio medico curante.

Dato che pochissimi bambini hanno finora effettuato una dose di richiamo di DTaP indipendentemente dalla conduzione dello studio, si ritiene opportuno offrire ai bambini partecipanti vaccinati contro la pertosse una dose gratuita di richiamo di DTaP, da effettuare nell'autunno 1998.

L'offerta della vaccinazione di richiamo consentirebbe di valutare sia l'immunogenicità che la sicurezza della 4^a dose di DTaP. La valutazione dell'effetto di una dose di richiamo sulla risposta umorale e cellulo-mediata appare inoltre attuabile solo a condizione che venga offerta una dose di richiamo a tutti i bambini della coorte dei vaccinati.

Lo studio è stato programmato sull'arco di tre anni e le rilevazioni si interromperanno nell'autunno del 1998, quando i bambini avranno raggiunto un'età di 6 anni. L'analisi e la consegna dei risultati è prevista per giugno 1999.