



ARS TOSCANA
agenzia regionale di sanità



**REGIONE
TOSCANA**

Allegato 2

PROTOCOLLO PER INDAGINE DI PREVALENZA NELLA POPOLAZIONE TOSCANA DI PORTATORE SANO DI *NEISSERIA MENINGITIDIS*

INDICE

	<i>Pag.</i>
1. BACKGROUND	1
2. OBIETTIVI DELLO STUDIO	2
2.1 Obiettivo Primario	2
2.2 Obiettivo Secondario	2
3. MATERIALI E METODI	2
3.1 Disegno dello studio	2
3.2 Popolazione in studio	2
3.3 Selezione della popolazione in studio	2
3.4 Durata dello studio	2
3.5 Dimensioni campionarie	2
4. RACCOLTA ED INVIO MATERIALE BIOLOGICO	3
5. ANALISI DEL TAMPONE	3
6. COMPILAZIONE SCHEDA FATTORI DI RISCHIO	3
7. COMUNICAZIONE DEL RISULTATO E OFFERTA DELLA VACCINAZIONE	4
8. GESTIONE DEI DATI ED ANALISI STATISTICA	4
9. BIBLIOGRAFIA PROTOCOLLO	4

ALLEGATO - A

Scheda d'indagine dei portatori

ALLEGATO - B

Procedure di prelievo, trasporto

Nota: gli allegati A e B contengono schede di natura tecnica che saranno oggetto di successiva definizione e che saranno comunicate alle Aziende USL interessate.

1. BACKGROUND

Neisseria meningitidis (NM) è un batterio commensale obbligato che vive nell'essere umano l'unico serbatoio [1]. Normalmente esso colonizza la mucosa delle alte vie respiratorie senza causare malattia invasiva e determinando il fenomeno noto come "stato di portatore asintomatico" o "carriage". La trasmissione di NM da persona a persona avviene attraverso le secrezioni respiratorie di persone con malattia meningococcica o da portatori sani del batterio (carriage). Quest'ultimi rappresentano la principale causa di contagio: solo nello 0,5% dei casi la malattia è trasmessa da persone affette dalla malattia [2]. La prevalenza dello stato di portatore varia in relazione all'età. Una systematic review con meta-analysis del 2010 [3] ha indicato che lo stato di carriage si attesta al 4-5% nei bambini 0-5 anni per poi incrementare al 7% nei bambini di età 10 anni e all'11% a 15 anni. Dai 16 ai 20 anni vi è poi un incremento esponenziale fino a raggiungere il picco del 23.7% nei soggetti di età 19 anni. Successivamente vi è un decremento, anche se i giovani adulti si attestano su livelli medio-alti: 17-22% fascia 21-25 anni; 13-16% fascia 26-30; 12-13% 31-35; 9-11% fascia 36-40; 7-9% fascia 41-45; 7-8% fascia 46-50; 6-7% fascia 51-55.

I più recenti studi eseguiti in Italia riportano differenti valori di prevalenza dello stato di carriage: 1.2% in soggetti 8-12 anni e 2.05% in studenti universitari in studi condotti in Puglia [4,5]; 18.5% in uno studio condotto a Genova su studenti universitari [6].

Una review degli studi sullo stato di carriage eseguiti in Europa [7], indica che la prevalenza tra i giovani adulti (18-30 anni) è del 10-35% e che la maggior parte degli individui sviluppa lo stato di portatore durante la sua vita. La durata dello stato di portatore è molto variabile. Studi longitudinali [8] riportano un'associazione commensale NM-ospite per un periodo di 5 mesi, ma, indicano anche che tale durata dipende dal tipo di ceppo di NM. In particolare, il clone NM C ST-11, che sta determinando l'attuale cluster di malattia meningococcica in Toscana, viene riportato in letteratura come associato, da una parte, ad un basso tasso di prevalenza dello stato di carriage e breve durata dello stesso, dall'altra, ad un alto tasso di trasmissione ed iper-virulenza [9]. Oltre all'età, molteplici fattori di rischio sono riportati in letteratura come indipendentemente associati allo stato di carriage [10-14] quali, l'esposizione al fumo passivo e attivo, consumo di alcool, frequentazione di locali chiusi come discoteche e feste, avere molteplici partner e vivere in ambienti condivisi come case-studenti. Più recentemente, diversi studi [15-22], tra i quali un Rapid Risk Assessment di ECDC, hanno riportato outbreak di NM in comunità omosessuali e tossicodipendenti, indicando che approfondite indagini sono necessarie per stimare la prevalenza di carriage in tali gruppi di popolazione. In seguito all'incremento di casi di meningococco C registrato sul territorio Toscano da inizio 2015, la Direzione "Diritti di cittadinanza e coesione sociale" della Regione Toscana, ha stabilito uno stretto contatto con l'Istituto Superiore di Sanità, Dipartimento di Malattie Infettive, Parassitarie ed Immunomediate, con lo scopo di condividere le scelte di sanità pubblica ed identificare le possibili cause del fenomeno. Tra le proposte operative sono state proposte alla Regione Toscana da parte dell'Istituto Superiore di Sanità, successivamente condivise con ARS Toscana, vi è anche l'indagine di prevalenza dei portatori viene trattata nel presente protocollo.

L'*outcome* principale del progetto di ricerca è quello d'individuare gruppi di popolazione a rischio per stato di portatore (e quindi gruppi a rischio di *outbreak*), al fine d'indirizzare gli interventi di prevenzione.

2. OBIETTIVI DELLO STUDIO

2.1 Obiettivo Primario. Misurare la prevalenza di portatori di *Neisseria meningitidis* nella popolazione della Regione Toscana.

2.2 Obiettivo Secondario. Identificare i determinati per stato di portatore nel contesto dell'*outbreak* Toscano, individuando gruppi specifici di popolazione a rischio.

3. MATERIALI E METODI

3.1 Disegno dello studio

Indagine di prevalenza di popolazione

3.2 Popolazione in studio

Soggetti che forniscono consenso, di età 11-45 anni residenti nella USL Centro, con riferimento aree di Firenze di Empoli), ed USL Area SUD EST, con particolare riferimento alle aree di Grosseto e di Siena. L'area di Siena viene selezionata come territorio di controllo in quanto al momento della redazione del protocollo non ha ancora registrato casi.

3.3 Selezione della popolazione in studio.

La popolazione di studio è composta da tutti i soggetti che si presentano per qualunque vaccinazione agli ambulatori selezionati per lo studio. I soggetti saranno reclutati dal personale sanitario mediante un campionamento di convenienza presso gli ambulatori vaccinali. Potranno essere reclutati sia soggetti vaccinandosi sia i genitori accompagnatori, purché rientrino nella fascia d'età 11-45 anni.

3.4 Durata dello studio

Tre mesi: 1 marzo 2016- 1 giugno 2016

3.5. Dimensioni campionarie

Supponendo che la prevalenza di carriage si attesti a circa il 10% nelle aree colpite, mentre nelle aree dove fino ad oggi non sono stati rilevati casi della malattia, tale prevalenza sia praticamente nulla (<1%), per estrarre un campione rappresentativo della popolazione, in grado di misurare se esistono differenze nelle due fasce d'età "11-20" e "21-45", con un livello di significatività dello 0,05 e una potenza del test pari al 90%, si propone di reclutare 600 soggetti per ciascuno dei seguenti territori: Firenze, Empoli, Grosseto, Siena.

Per un totale di 2.400 soggetti.

4. RACCOLTA ED INVIO MATERIALE BIOLOGICO

Il personale degli ambulatori vaccinali:

- Raccolgono il consenso informato attraverso firma da parte del soggetto arruolato o del genitore/tutore in caso di minore, del “Modello di dichiarazione di consenso informato partecipazione studio portatori”;
- Forniscono scheda allegato A al soggetto arruolato per auto compilazione apponendo su ogni pagina bar code che collega il tampone alla scheda fattori di rischio.
- Conservano parte C della scheda allegato A compilando sezione C.1 ed allegano intera parte C alla confezione del tampone orofaringeo da inviare al laboratorio.
- Eseguono tampone orofaringeo secondo le modalità riportate nell'allegato B “Procedure di prelievo, trasporto ed analisi materiale biologico tampone oro faringeo”
- Invisano il materiale biologico entro 24 ore al laboratorio di microbiologia dell'Azienda Ospedaliera Universitaria di Careggi.

5. ANALISI DEL TAMPONE

- Il Laboratorio dell'Azienda Ospedaliera Universitaria di Careggi riceve i campioni dai centri vaccinali ed effettua le analisi con metodo colturale, inviando successivamente il liquido del tampone al Laboratorio di Immunologia dell'Azienda Ospedaliera Universitaria Meyer che lo processa con metodica PCR.
- In caso di positività all'esame colturale, il Laboratorio dell'Azienda Ospedaliera Universitaria di Careggi invia il ceppo isolato al Laboratorio ISS per analisi genomica, secondo le modalità riportate nell'allegato B.
- Una volta ottenuto il risultato del test, il Laboratorio dell'Azienda Ospedaliera Universitaria di Careggi e il Laboratorio dell'Azienda Ospedaliera Universitaria Meyer inviano il risultato al responsabile dell'ambulatorio vaccinale che si occupa di registrare il risultato sulla scheda dei fattori di rischio ed a comunicarlo al soggetto.

6. COMPILAZIONE SCHEDA FATTORI DI RISCHIO

Il personale degli ambulatori vaccinali una volta proposto lo studio, effettuato il tampone e completata la vaccinazione, consegnano la scheda fattori di rischio allegato A “Scheda d'indagine dei portatori”. La scheda d'indagine, strutturata in domande chiuse ed aperte, ha l'obiettivo di raccogliere informazioni per l'individuazione dei fattori di rischio per stato di portatore. Essa è stata elaborata sulla base di una review della letteratura sui fattori di rischio per carriage di NM. La scheda è autosomministrata e viene compilata nei 15 minuti in cui il soggetto deve aspettare per il controllo delle eventuali reazioni avverse prima di allontanarsi dall'ambulatorio. Ogni settimana i centri vaccinali inviano le schede ad Ars per la loro informatizzazione.

7. COMUNICAZIONE DEL RISULTATO E OFFERTA DELLA VACCINAZIONE:

Una volta ricevuta la comunicazione del risultato gli ambulatori vaccinali adottano la seguente strategia di comunicazione verso i soggetti reclutati nello studio:

- se risultato positivo convocano il soggetto all'ambulatorio e propongono profilassi antibiotica e vaccinazione quadrivalente così come da Delibera 571 del 27 aprile 2015 e successive integrazioni;
- se risultato negativo inviano comunicazione scritta presso domicilio del soggetto con il seguente testo "Gentile sig.ra, La ringraziamo per aver partecipato alla nostra indagine. Le comunichiamo che il tampone faringeo da lei effettuato in data presso il nostro presidio sanitario E' RISULTATO NEGATIVO PER MENINGOCOCCO. Le offriamo comunque la possibilità di vaccinarsi per il meningococco c in uno dei nostri ambulatori. Le chiediamo inoltre di informare il suo medico di famiglia a cui è rivolta questa nota per conoscenza. Per ogni informazione può telefonare al..... dalle ore alle oreCordiali saluti"

8. GESTIONE DEI DATI ED ANALISI STATISTICA

Tutte le schede saranno inserite in Database costruito ad hoc da parte di Ars Toscana. La differenza nella prevalenza di carriage tra aree e popolazioni sarà misurata mediante test binomiale. Saranno calcolate statistiche descrittive della popolazione in studio e delle relative variabili indipendenti. Chi square test verrà eseguito per esplorare l'associazione tra stato di portatore di NM e le variabili indipendenti. I fattori che saranno individuati significativi a $p < 0.05$ nell'analisi univariata, saranno inseriti in un modello multiplo di regressione logistica, e gli Adjusted Odds Ratio saranno calcolati con intervallo di confidenza al 95% (95% CI) per ognuna delle variabili indipendenti attraverso programma statistico STATA.

9. BIBLIOGRAFIA PROTOCOLLO

1. CDC. Prevention and control of meningococcal disease: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). MMWR Recomm Rep 2013;62(No. RR-2).
2. Dominique A. Caugant, Martin C.J. Maiden. Meningococcal carriage and disease—Population biology and evolution. Vaccine 27S (2009) B64–B70.
3. Christensen H, May M, Bowen L, Hickman M, Trotter CL. Meningococcal carriage by age: a systematic review and meta-analysis. Lancet Infect Dis. 2010 Dec;10(12):853-61.
4. M.T. Montagna et al. Indagine sui portatori sani di Neisseria Meningitidis tra gli adolescenti di alcune aree pugliesi. Ann Ig 2003; 15: 845-850.
5. Germinario C, et al. Young-adult carriers of Neisseria meningitidis in Puglia (Italy). Will the pattern of circulating meningococci change following the introduction of

- meningococcal serogroup C conjugate vaccines? *Hum. Vaccin.* 6(12), 1025–1027 (2010).
6. Roberto Gasparini et al. Molecular and Serological Diversity of *Neisseria meningitidis* Carrier Strains Isolated from Italian Students Aged 14 to 22 Years. *J Clin Microbiol.* 2014 Jun;52(6):1901-10.
 7. Soriano-Gabarró M, Wolter J, Hoge C, Vyse A. Carriage of *Neisseria meningitidis* in Europe: a review of studies undertaken in the region. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2011 Sep;9(9).
 8. Dominique A. Caugant, Georgina Tzanakaki & Paula Kriz. Lessons from meningococcal carriage studies. *FEMS Microbiol Rev* 31 (2007) 52–63.
 9. Anne Abio, Keith R Neal and Charles R Beck. An epidemiological review of changes in meningococcal biology during the last 100 years. *Pathog Glob Health.* 2013 Oct; 107(7): 373–380.
 10. MacLennan J, Kafatos G, Neal K, Andrews N, Cameron JC, Roberts R, et al. (2006) Social behavior and meningococcal carriage in British teenagers. *Emerg Infect Dis* 12:950–7. PMID: 16707051
 11. Kremastinou, J, Tzanakaki, G, Levidiotou, S et al. Carriage of *Neisseria meningitidis* and *Neisseria lactamica* in northern Greece. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2003; 39: 23–29.
 12. Blackwell CC et al. Secretor status, smoking and carriage of *Neisseria meningitidis*. *Epidemiol Infect.* 1990 Apr;104(2):203-9.
 13. Patricia E. Fitzpatrick. Risk Factors for Carriage of *Neisseria meningitidis* during an Outbreak in Wales. *Emerging Infectious Diseases- Vol. 6, No. 1, January–February 2000.*
 14. Lee H. Harrison et al. Risk Factors for Meningococcal Disease in Students in Grades 9-12. *Pediatr Infect Dis J.* 2008;27(3):193-199.
 15. Matthew S. Simon, Don Weissnand Roy M. Gulick. Invasive Meningococcal Disease in Men Who Have Sex With Men. *Ann Intern Med.* 2013;159:300-301.
 16. Schmink S, Watson JT, Coulson GB, Jones RC, Diaz PS, Mayer LW, et al. Molecular epidemiology of *Neisseria meningitidis* isolates from an outbreak of meningococcal disease among men who have sex with men, Chicago, Illinois, 2003. *J Clin Microbiol.* 2007;45:3768-70.
 17. Centers for Disease C, Prevention. Notes from the field: serogroup C invasive meningococcal disease among men who have sex with men – New York City, 2010–2012. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2013 Jan 4;61(51-52):1048. PubMed PMID: 23282863.

18. Simon MS, Weiss D, Gulick RM. Invasive meningococcal disease in men who have sex with men. *Ann Intern Med.* 2013 Jun 17.
19. Weiss D, Varma JK. Control of recent community-based outbreaks of invasive meningococcal disease in men who have sex with men in Europe and the United States. *Euro Surveill.* 2013;18(28):pii=20522.
20. Don Weiss et al. Epidemiologic Investigation and Targeted Vaccination Initiative in Response to an Outbreak of Meningococcal Disease among Illicit Drug Users in Brooklyn, New York. *Clin Infect Dis.* (2009) 48 (7): 894-901.
21. Krause G, Blackmore G, Wiersma S, et al. Marijuana use and social networks in a community outbreak of meningococcal disease. *South Med J* 2001;94:482-4.
22. ECDC. RRA, Invasive meningococcal disease among MSM, July 2013.