

**Epidemie, pandemie
e casi di impiego di
armi biologiche.
L'uso dei vaccini.
3[^] parte**

*Silvana de Candia
Biologa
Biotecnologa industriale
Master in Virologia molecolare
Master in Nutrizione Clinica*



La funzione della vaccinazione

- **Tempo di risposta:** all'organismo esposto ai microrganismi possono occorrere da oltre 2 settimane, fino a mesi, per produrre anticorpi sufficienti; in questo intervallo, i microrganismi possono provocare danni di varia entità
- **Difesa del sistema immunitario:** crea una immunità attiva per difendere l'organismo da agenti patogeni

Struttura dei vaccini

- **Microrganismi resi non infettivi o subunità microbiche**
- **Anatossine cioè tossine rese innocue mediante trattamento apposito**
- **DNA, RNA o peptidi ottenuti con tecniche di ingegneria genetica**

Generalità sui vaccini

- **Prima dose:** ➤ **Risposta primaria.** Richiede un tempo di risposta. ->
 - **Attivazione di cellule B naive -> differenziazione di linfociti B**
-> anticorpi
 - **Attivazione di linfociti T**
 - **Formazione di cellule di memoria**
- **Tempo di latenza** intercorrente tra la prima dose vaccinazione e la formazione di anticorpi: da 2 settimane in sù
- **Seconda dose:** ➤ **Risposta secondaria.** Tempo di latenza più breve, grazie alle cellule di memoria.
-> **Immunità acquisita**

Generalità sui vaccini

Risposta agli antigeni

Tipo di anticorpi prodotti nella risposta primaria:

Prevalenza IgM, poche IgG

Tipo di anticorpi prodotti nella risposta secondaria:

Prevalenza IgG, in minor misura IgM, IgA, IgE

Classificazione dei vaccini

Vaccini di prima generazione

- **Microorganismi vivi ed attenuati**
- **Microorganismi uccisi**
- **Anatossine**

Vaccini di seconda generazione

- **Subunità purificate**
- **Proteine ricombinanti**

Vaccini di terza generazione

- **A DNA ricombinante**
- **A vettore virale**
- **Ad mRNA**

Classificazione dei vaccini

Vaccini di prima generazione

Microrganismi vivi ed attenuati (dagli anni '50)

- I microbi vengono indeboliti mediante ripetuti passaggi in terreni di coltura in condizioni subottimali di crescita
- Controindicazioni:
 - Soggetti con deficit immunitario (il vaccino non funziona)
 - Possono ritornare allo stato originario e -> malattia (vaccino di Sabin)
- TIPOLOGIE ATTUALI (esempi):
 - x Morbillo-rosolia-parotite-varicella
 - x Herpes zoster
 - x Febbre gialla
 - Antipolio orale di Sabin
 - Antitubercolare di Calmette e Guerin (BCG)

Classificazione dei vaccini

Vaccini di prima generazione

Microrganismi uccisi

- I microbi vengono uccisi con sistemi chimici o il calore
- Ideali per i soggetti con deficit immunitario
- Controindicazioni:
 - Efficacia limitata, richiedono più dosi.
- TIPOLOGIE ATTUALI (esempi):
 - Antipolio di Salk
 - x Epatite A
 - x Rabbia

Anatossine o tossoidi

- Preparati contro le tossine batteriche.
- Le tossine vengono private del potere tossico, mantenendo quello immunogeno, mediante trattamento con agenti fisici (calore) o chimici (formaldeide)

Classificazione dei vaccini

Vaccini di seconda generazione

Subunità purificate

- Uno specifico componente del microrganismo, con funzione antigenica, viene isolato e purificato
- TIPOLOGIE ATTUALI (esempi):
 - Antinfluenzale a subunità
 - x Meningococco
 - x Pertosse

Proteine ricombinanti

- Proteine del microrganismo con funzione antigenica, prodotte con tecnologie di ingegneria genetica.
- TIPOLOGIE ATTUALI (esempi):
 - Antinfluenzale
 - x Meningococco
 - x Epatite B

Classificazione dei vaccini

Vaccini di terza generazione

A DNA ricombinante

Il principio base è quello di trasferire direttamente, nelle cellule immunitarie, i geni che codificano per le proteine antigeniche dei microrganismi. Nelle cellule immunitarie questi geni vengono trascritti e successivamente tradotti producendo le proteine con funzione antigenica.

La somministrazione avviene tipicamente per elettroporazione.

Un manipolo applicato sulla pelle veicola il vaccino mediante impulsi elettrici: attraverso un cambiamento della differenza del potenziale elettrico, inducono la formazione di pori temporanei da cui avviene il passaggio della sostanza nel derma. Il DNA migra direttamente nel nucleo delle cellule.

Classificazione dei vaccini

Vaccini di terza generazione

A vettore virale

Variante del vaccino a DNA ricombinante.

Viene inoculato un virus ingegnerizzato, ad esempio un Adenovirus (causa raffreddore o forme simil-influenzali), nel cui DNA è stato inserito il gene di interesse.

L'Adenovirus si comporta come un normale virus: infetta la cellula, nel citoplasma si libera del capsido e il genoma si sposta nel nucleo. Il virus però non si moltiplica e non causa malattia, perché difettivo dei geni per la replicazione.

Anche in questo caso, nelle cellule immunitarie, il gene di interesse viene trascritto nel nucleo formando una molecola di mRNA. Questa si sposta nel citoplasma dove viene tradotta, producendo le proteine con funzione antigenica.

Vaccini di terza generazione

Ad mRNA

- **Il principio base è quello di utilizzare l'mRNA (RNA messaggero) che codifica per le proteine del microrganismo che hanno funzione antigenica**
- **Quando viene iniettato il vaccino in sede intramuscolare, i linfonodi assorbono le particelle e l'mRNA entra nelle cellule. Qui, nello stesso citoplasma, viene utilizzato dai ribosomi cellulari per essere tradotto nelle proteine di interesse. L'mRNA non entra nel nucleo e quindi non interagisce con il genoma della cellula.**

Vaccini di terza generazione

Cosa succede quando vengono prodotte le proteine?

- **Le proteine con funzione antigenica vengono esposte sulla superficie esterna di specifiche cellule, in particolare cellule dendritiche e macrofagi.**
- **In questo modo vengono riconosciute come estranee (non self) e attivano la risposta sia delle cellule B, che di quelle T del sistema immunitario.**

Sviluppo dei vaccini

Fasi di sviluppo dei vaccini.

- 1. Allestimento dei preparati vaccinali.**
- 2. Osservazione del comportamento e livello di tossicità.**
- 3. Studi in vitro e in vivo per capire quale componente del microorganismo può stimolare la reazione del sistema immunitario.**
- 4. Sperimentazione clinica su un campione crescente di volontari prima di mettere in commercio il vaccino:**
 - Fase 1: test su una decina di persone, per verificare la frequenza e la gravità degli effetti collaterali**
 - Fase 2: test su centinaia di persone, vaccino somministrato a dosi diverse, si verifica la tossicità e la capacità del vaccino d'indurre una risposta immunitaria che sia valida.**
 - Fase 3: test su migliaia di volontari.**
- 5. Studi eseguiti dopo la commercializzazione.**

I vaccini contro il Covid-19

Vaccini contro il Covid-19 di terza generazione.

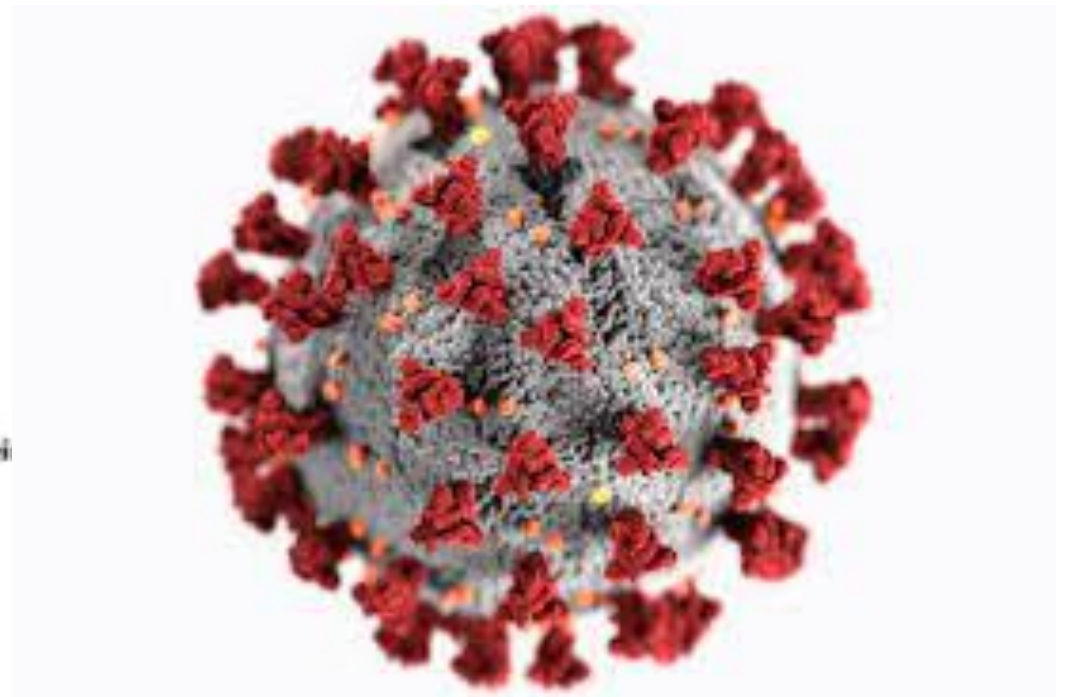
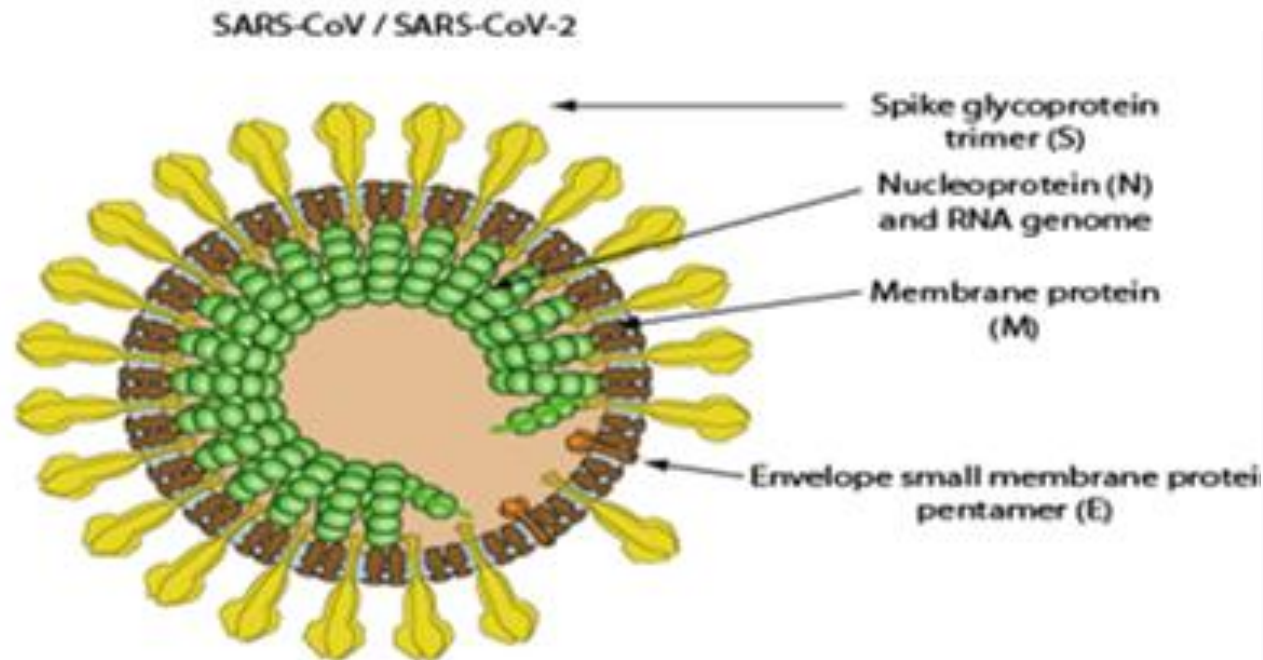
Tempi di sviluppo e produzione

- **I tempi abituali per la produzione dei vaccini sono normalmente di 10 anni.**
- **In contesto pandemico mondiale, la disponibilità di biotecnologie avanzate unitamente ad uno sforzo umano e scientifico congiunto, che ha coinvolto migliaia di ricercatori, e a giganteschi investimenti economici, hanno consentito di sviluppare vaccini ex novo in tempi record**
- **I vaccini sono stati testati in studi clinici ben ideati, ed eseguiti su grandi campioni di popolazione.**
- **I vaccini sono stati poi sottoposti all'approvazione dei centri regolatori europei ed internazionali.**

I vaccini contro il Covid-19

Vaccini contro il Covid-19 di terza generazione

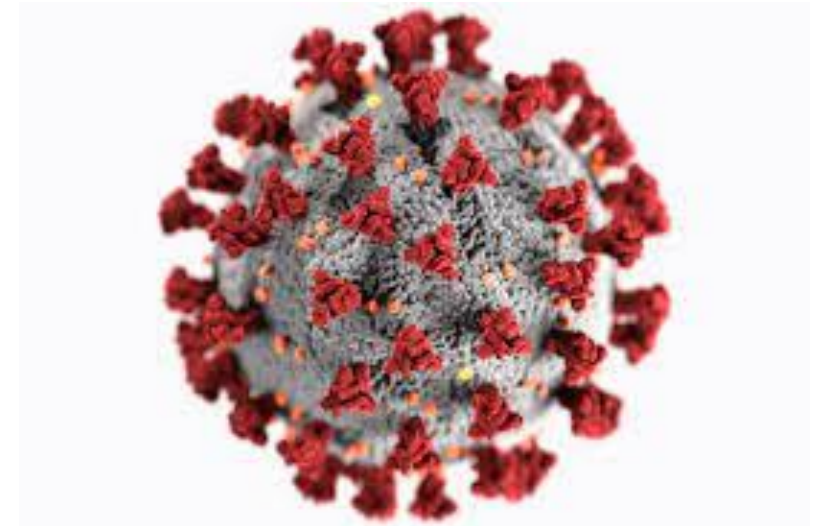
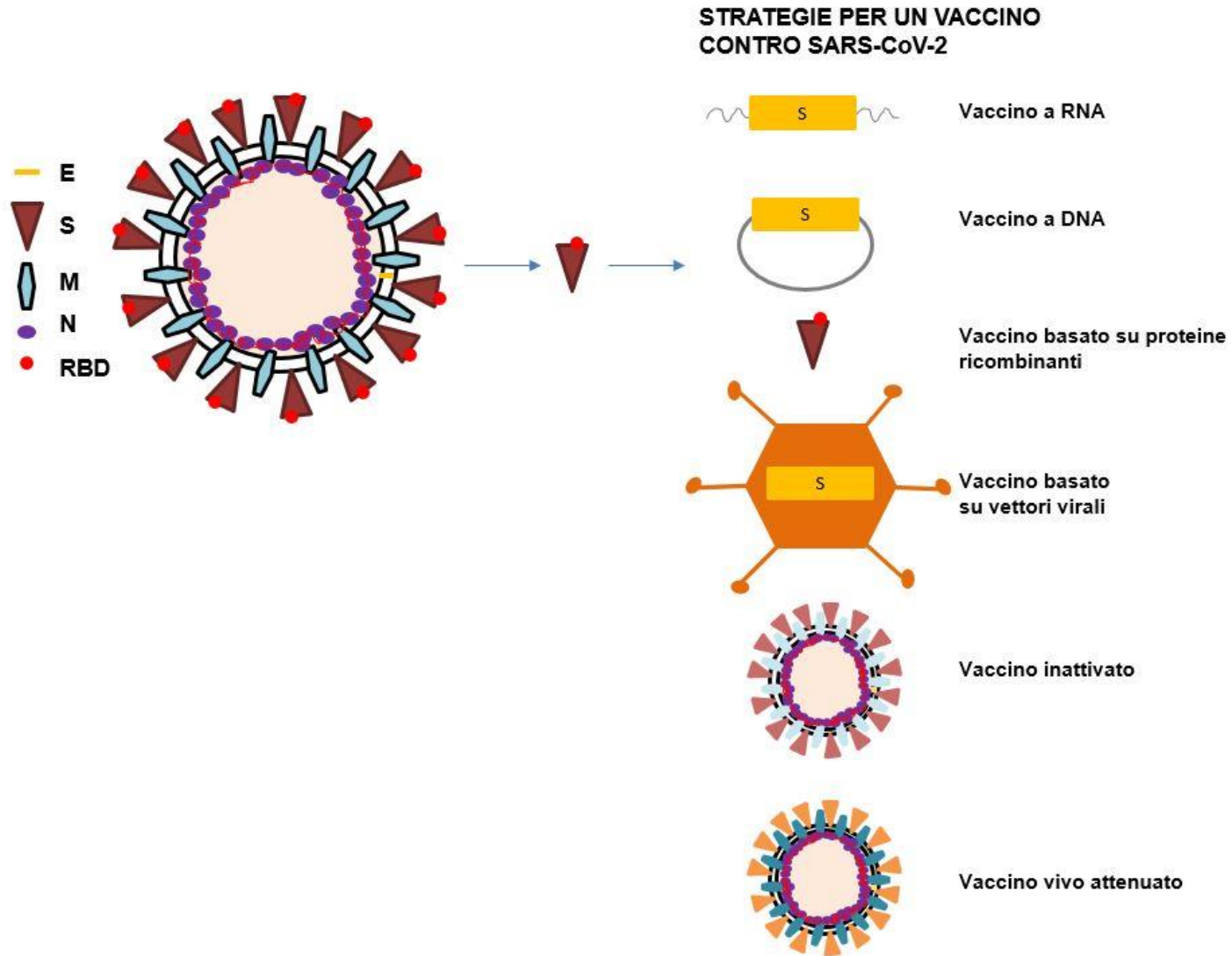
- Quali sono le proteine del Covid-19 con funzione antigenica?
Sono le proteine Spike (S), cioè quelle che sporgendo dall'envelope, riconoscono e legano il recettore delle cellule umane, e consentono al virus di introdursi nella cellula ospite ed esplicare l'azione patogenetica



I vaccini contro il Covid-19

Vaccini contro il Covid-19

A



Vaccini contro il Covid-19 di terza generazione

A DNA ricombinante:

- **Covid-19 ZyCov**

Vaccino indiano costituito da un filamento circolare di DNA ricombinante di origine batterica (plasmide). Contiene il gene per la proteina Spike (S) e la sequenza del promotore per attivarlo.

All'interno del nucleo della cellula immunitaria, il plasmide di regola non si integra nel genoma della cellula ospite. Il gene S viene trascritto e si forma il corrispondente mRNA.

Questo si sposta nel citoplasma dove viene tradotto nelle proteine Spike.

I vaccini contro il Covid-19

Vaccini contro il Covid-19 di terza generazione

a Vettore virale

- **Vaxzevria prodotto dall'Astrazeneca**
Utilizza Adenovirus 5 di scimpanzé ricombinante
Richiede 2 somministrazioni a distanza di 28-84 giorni.
- **Janssen prodotto dalla Johnson**
Utilizza Adenovirus 26 umano ricombinante
Vaccino con somministrazione unica
- **Sputnik prodotto dal Centro Gamaleya (Russia)**
Utilizza Adenovirus umano, vettore diverso per ognuna delle due somministrazioni

I vaccini contro il Covid-19

Vaxzevria (Astrazeneca). Composizione e studi clinici

Vaxzevria è composto da $2,5 \times 10^{10}$ particelle virali di Adenovirus di scimpanzé ChAdOx1-Sn COV19. Contiene inoltre (come stabilizzanti e soluzione tampone):

- **Istidina,**
- **Saccarosio**
- **Sodio cloruro**
- **Cloruro di magnesio**
- **Polisorbato 80**
- **Disodio edetato**
- **Etanolo 0,5%**
- **Acqua per preparazioni iniettabili**

Gli studi registrativi per AZD1222 hanno interessato oltre 12000 persone.

Vaccinio Janssen (Johnson). Composizione e studi clinici

Janssen è composto da particelle virali inattivate di Adenovirus (umano) tipo 26. Contiene inoltre:

- **Acido citrico monoidrato**
- **Citrato trisodico diidrato**
- **Etanolo**
- **2-idrossipropil- β -ciclodestrina**
- **Polisorbato-80**
- **Cloruro di sodio.**

I dati di sicurezza ed efficacia si basano su di uno studio che ha coinvolto 40.000 partecipanti

Ridotta efficacia ed effetti indesiderati

Ridotta efficacia

- **Il paziente potrebbe avere già una immunità contro il virus vettore, in particolare nel caso di Adenovirus umano, riducendo quindi l'efficacia del vaccino;**
- **Il paziente potrebbe sviluppare anticorpi contro il virus vettore dopo la prima dose, riducendo anche in questo caso l'efficacia del vaccino**

Trombocitopenie e disturbi della coagulazione

- **La trombocitopenia e la trombosi immunitaria da vaccino sono sindromi associate ai vaccini a vettore adenovirale**
- **Nella maggior parte dei casi ha riguardato donne di età compresa tra 20 e 50 anni**
- **Non ancora accertato se il fattore scatenante sia il vettore virale o la stessa proteina Spike**

I vaccini contro il Covid-19

Vaccini contro il Covid-19 di terza generazione

Ad mRNA

- **Comirnaty** prodotto dalla multinazionale statunitense Pfizer e dalla tedesca Biontech
2 somministrazioni a distanza di 21 giorni
- **Spikevax** prodotto dalla azienda statunitense Moderna
2 somministrazioni a distanza di 28 giorni

Viene utilizzato direttamente l'mRNA delle proteine Spike incapsulato in nanoparticelle lipidiche.

L'RNA messaggero (mRNA) a singola elica è prodotto mediante trascrizione in vitro, senza l'ausilio di cellule (cell-free) dal corrispondente DNA stampo, che codifica per la proteina virale spike (S) del SARS-CoV-2.

I vaccini contro il Covid-19

Comirnaty (Pfizer). Composizione

Ogni dose di Comirnaty contiene 30 microgrammi di mRNA. Gli altri componenti (lipidi, stabilizzanti e soluzione tampone) sono:

- **((4-idrossibutil)azanediil)bis(esano-6,1-diil)bis(2-esildecanoato) (ALC-0315)**
- **2-[(polietilenglicole)-2000]-N,N-ditetradecilacetammide (ALC-0159)**
- **1,2-distearoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DSPC)**
- **colesterolo**
- **potassio cloruro**
- **potassio diidrogeno fosfato**
- **sodio cloruro**
- **fosfato disodico diidrato**
- **saccarosio**
- **acqua per preparazioni iniettabili**

I vaccini contro il Covid-19
Comirnaty (Pfizer). Studi clinici

Lo studio clinico che ha dimostrato l'efficacia del vaccino Comirnaty ha coinvolto Stati Uniti, Germania, Brasile, Argentina, Sudafrica e Turchia.

La metà dei partecipanti ha ricevuto il vaccino, l'altra metà ha ricevuto un placebo, un prodotto identico in tutto e per tutto al vaccino, ma non attivo.

L'efficacia è stata calcolata su oltre 36.000 persone che non presentavano segni di precedente infezione.

I vaccini contro il Covid-19
Spikevax (Moderna). Composizione

Una dose di Spikevax contiene 100 microgrammi di RNA messaggero (mRNA).

Altri componenti (lipidi, stabilizzanti e soluzione tampone):

- **Lipide SM-102 (eptadecano-9-il 8-{(2-idrossietil)[6-osso-6-(undecilossi)esil]ammino}ottanoato)**
- **Colesterolo**
- **1,2-distearoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DSPC)**
- **1,2-dimiristoil-rac-glicero-3-metossipolietilenglicole-2000 (PEG2000 DMG)**
- **Trometamolo**
- **Trometamolo cloridrato**
- **Acido acetico**
- **Sodio acetato triidrato**
- **Saccarosio**
- **Acqua per preparazioni iniettabili**

I vaccini contro il Covid-19

Spikevax (Moderna). Studi clinici

Lo studio clinico che ha dimostrato l'efficacia del vaccino Spikevax che ha interessato oltre 30.300 persone.

La metà dei partecipanti ha ricevuto il vaccino, l'altra metà ha ricevuto un placebo, un prodotto identico in tutto e per tutto al vaccino, ma non attivo

I vaccini ad mRNA contro il Covid-19 a confronto

Descrizione	BioNTech (Pfizer)	Moderna
mRNA	RNA messaggero con cappuccio 5' (mRNA) a filamento singolo altamente purificato che codifica per la proteina virale Spike (S) di SARS-CoV-2.	RNA messaggero con cappuccio 5' (mRNA) a filamento singolo altamente purificato che codifica per la proteina virale Spike (S) di SARS-CoV-2.
Lipidi	2-{{(polietilenglicole)-2000}-N, N-ditetradecilacetammide	1,2-dimiristoli-rac-glicero-3 metossipolietilenglicole-2000 (PEG 2000 DMG)
	1,2-distearoil-sn-glicero-3-fosfocolina	1,2-distearoil-sn-glicero-3-fosfocolina
	Colesterolo	Colesterolo
	(4-idrossibutil) azandil) bis (esano-6,1-dil) bis (2-esildecenoato)	Lipide SM-102
Sali, zuccheri, soluzioni tampone	Cloruro di potassio	Trometamolo
	Diidrogeno fosfato di potassio	Trometamolo cloridrato
	Cloruro di sodio	Acido acetico
	Disodio idrogenofosfato diidrato	Sodio acetato triidrato
	Saccarosio	Saccarosio

Effetti indesiderati

Miocardite e pericardite

- **In una percentuale bassa di casi, dopo la seconda dose si sono verificati episodi di miocardite o pericardite, in genere risolti rapidamente con somministrazione di ibuprofene**
- **Ha riguardato perlopiù giovani maschi**
- **Non nota la causa. Potrebbe essere legata alle molecole infiammatorie che attivano la risposta immunitaria**

Altri vaccini contro il Covid-19

Peptidici

- **Novavax**, messo a punto dalla azienda statunitense, è attualmente in fase 3 di sperimentazione, potrebbe essere approvato entro la fine del 2021.
- **Preparato di proteine ricombinanti mescolate con un adiuvante (saponine) per stimolare la risposta immunitaria**
- **Microrganismi vivi ed attenuati**
Sinovac, prodotto dalla azienda cinese, ha ottenuto in **Cile una efficacia moderata, stimata al 54%**

Allergie

- **Componente più allergenico: Polietilenglicole (PEG)**
Stabilizzante delle nanovesicole lipidiche dei vaccini ad mRNA
- **In caso di sospetta allergia ad uno dei componenti del vaccino: opportuno sottoporsi ai test allergologici**
- **Per i soggetti reattivi: consigliato vaccinarsi in ambiente protetto (ospedaliero) e segnalare i dubbi in fase di intervista**

CONCLUSIONI

Covid-19, variante Delta e Delta plus. Quanti vaccini?

Terza dose e richiami

- **Trascorsi 6 mesi dalla conclusione del ciclo vaccinale, il livello degli anticorpi si è in genere appiattito, in modo particolare negli anziani, negli individui sottoposti a stress e nei soggetti fragili e perciò diventa insufficiente per proteggere efficacemente e sin dai primissimi giorni, dalla variante Delta e Delta plus.**
- **È quindi necessario un terzo richiamo e probabilmente saranno necessari altri richiami periodici**

CONCLUSIONI

Covid-19, variante Delta e Delta plus. Vaccinarsi o no?

Rischio di gravi complicazioni e sequele in caso di Covid-19

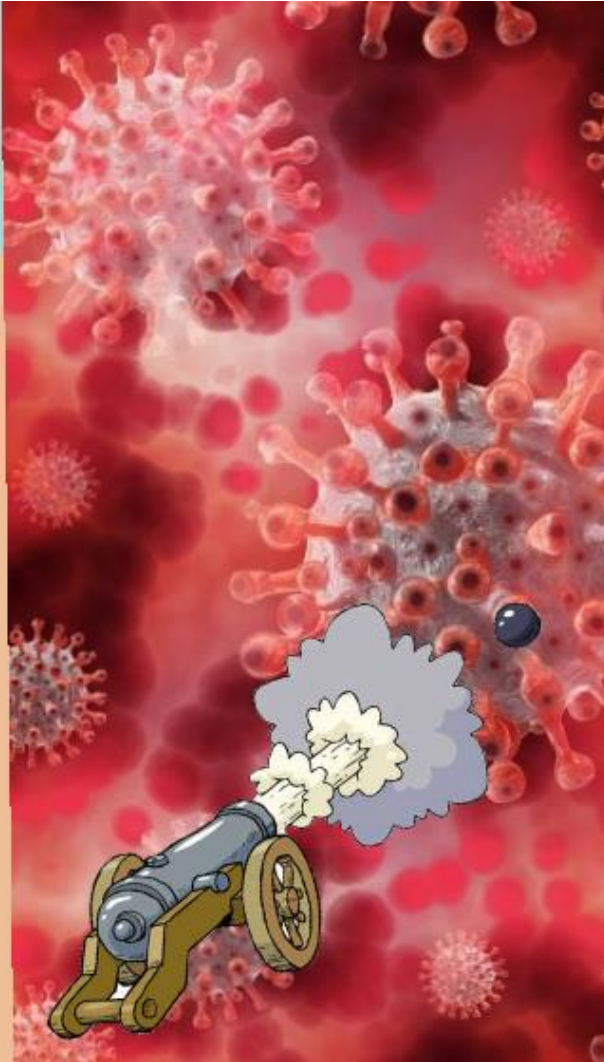
- **Covid-19 non è affatto un banale virus, sottovalutarlo può essere molto rischioso**
- **Numerosi casi di complicazioni da Covid-19 a livello polmonare, epatico, renale, cognitivo e neurologico**
- **Frequenti casi di sequele post Covid a diverse settimane dalla guarigione, anche in soggetti molto giovani**

I soggetti non vaccinati espongono costantemente a rischio la propria salute e al tempo stesso sostengono la pandemia, facilitando la circolazione dei virus e la comparsa di nuove e ancor più aggressive varianti

CONCLUSIONI

L'importanza della vaccinazione

- **Nel passato alcuni virus pandemici hanno contribuito in modo determinante a far scomparire intere popolazioni e civiltà**
- **I tempi di durata, e gli effetti, di una pandemia sono imprevedibili**
- **L'unica misura realmente in grado di debellare una pandemia, soprattutto di origine virale, è il vaccino**
- **In una popolazione non vaccinata, difficilmente un nuovo virus con potenzialità pandemiche, può scomparire definitivamente**



GRAZIE

