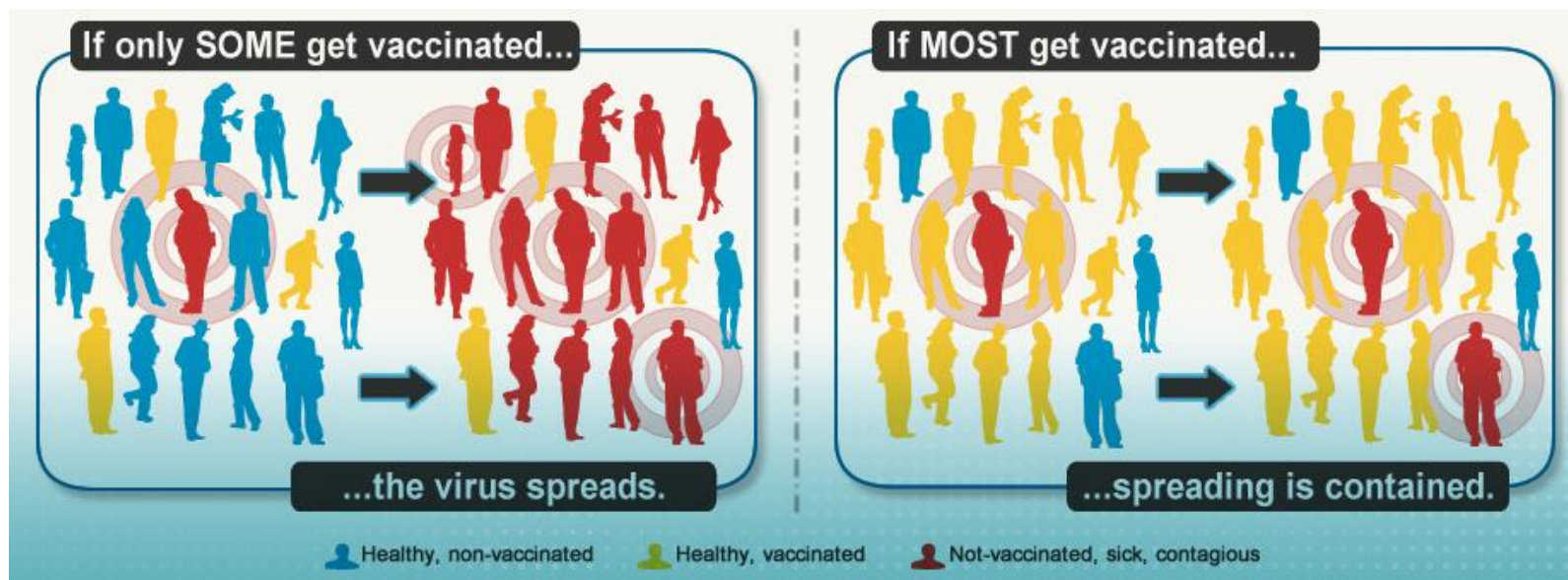




SAPIENZA  
UNIVERSITÀ DI ROMA

# INTRODUZIONE AI VACCINI

Microbiologia e Virologia 2018



# Infection and Immunity

---

**Pathogens  
(bacteria, virus, parasite...)**

**Virulence**



**Pathology following the first exposure to the pathogen**

**Stimulation of the immune system**

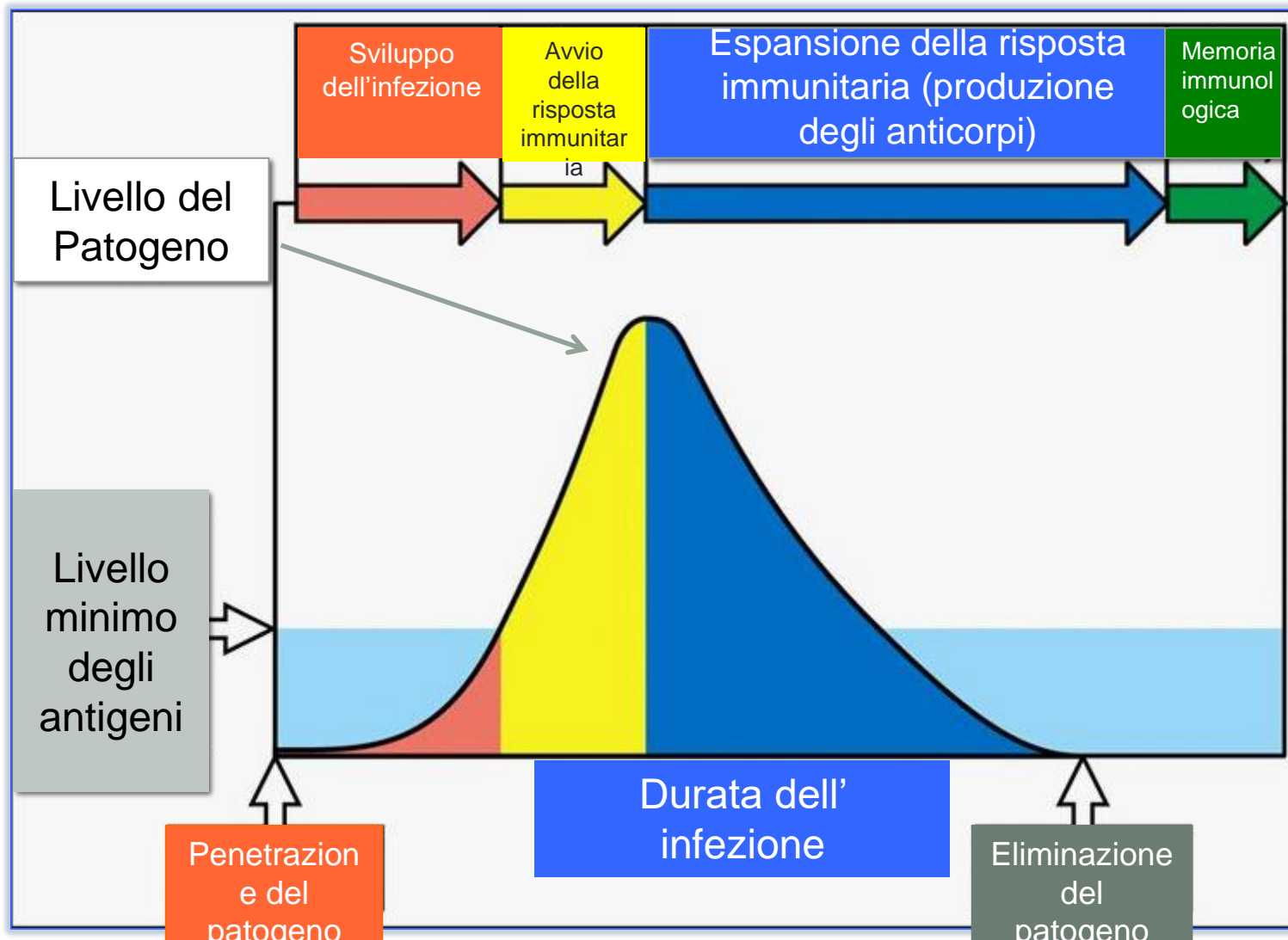


**① Elimination of the pathogen**



**② Protection against a second exposure to the same pathogen**

# ...durante un'infezione....



Concentrazione degli anticorpi

Iniziale esposizione all'antigene

Successiva esposizione all'antigene

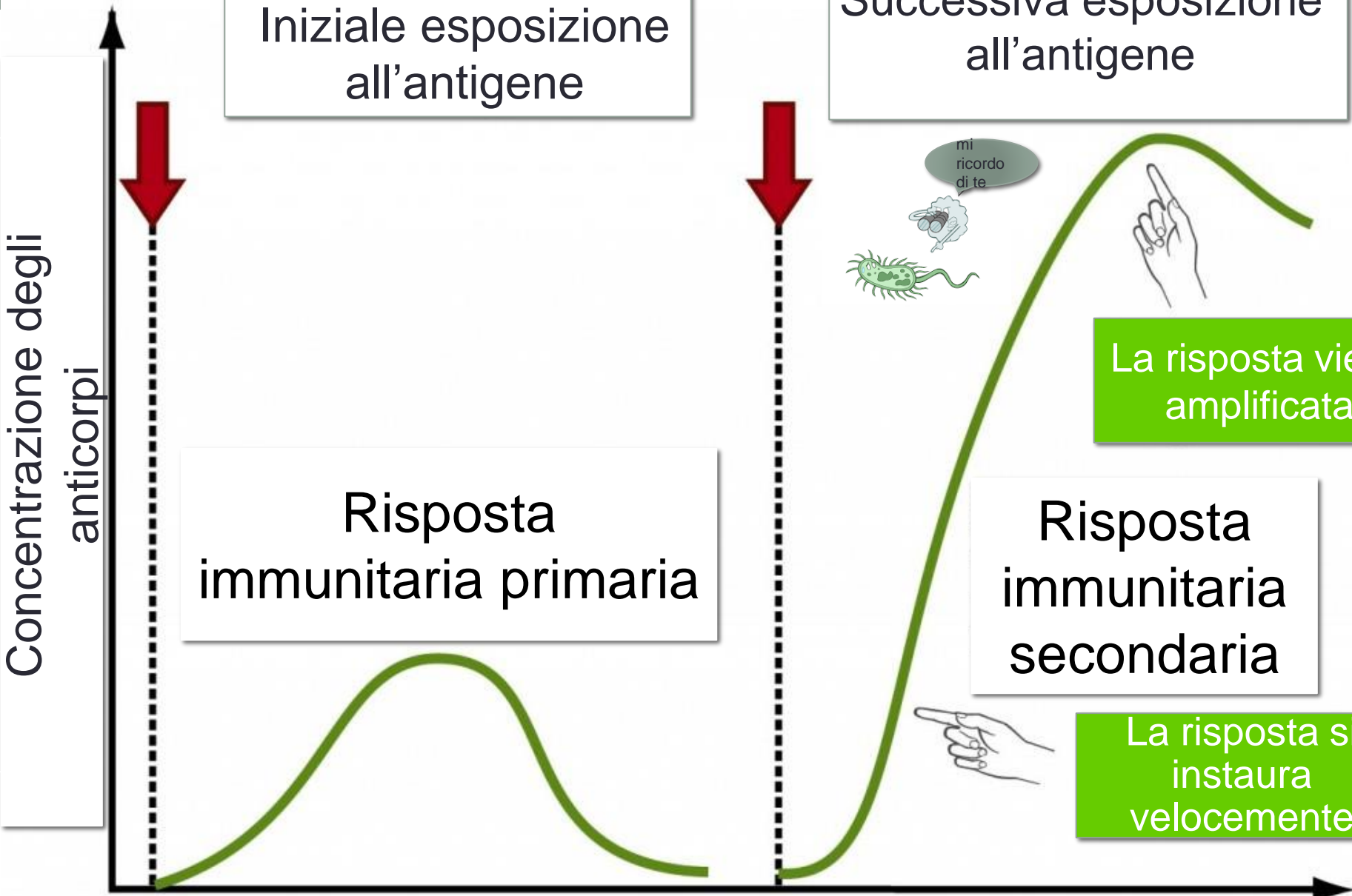
Risposta immunitaria primaria

Risposta immunitaria secondaria

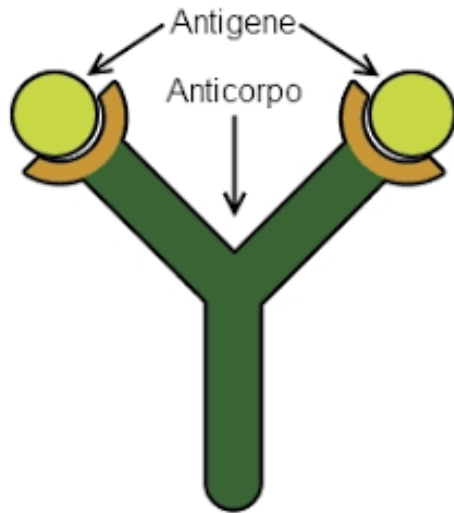
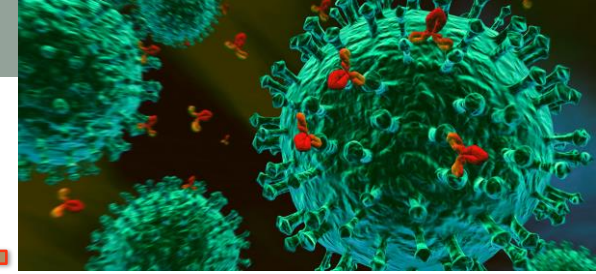
La risposta viene amplificata

La risposta si instaura velocemente

TEMPO



# Antigene ed anticorpo.



**ANTIGENE:** ..un organismo, una molecole o parte di questa che viene riconosciuta dal sistema immunitario e che stimola la produzione di anticorpi

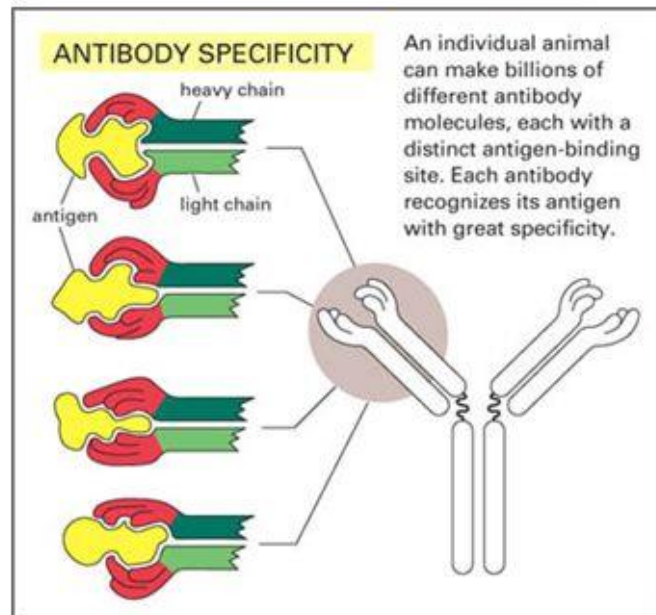
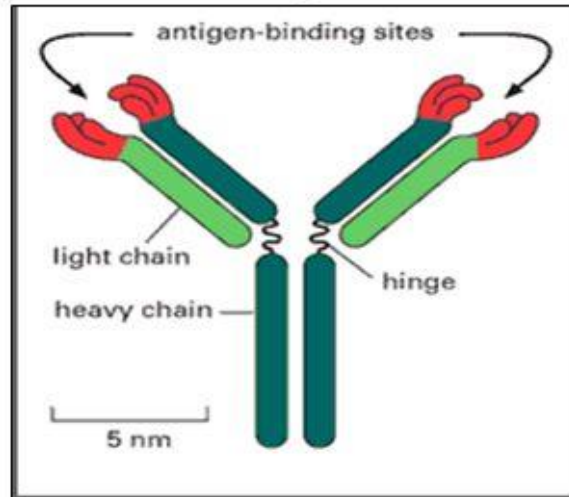


**ANTICORPO:** .. proteine che vengono prodotte dall'organismo in seguito all'esposizione di un antigene..



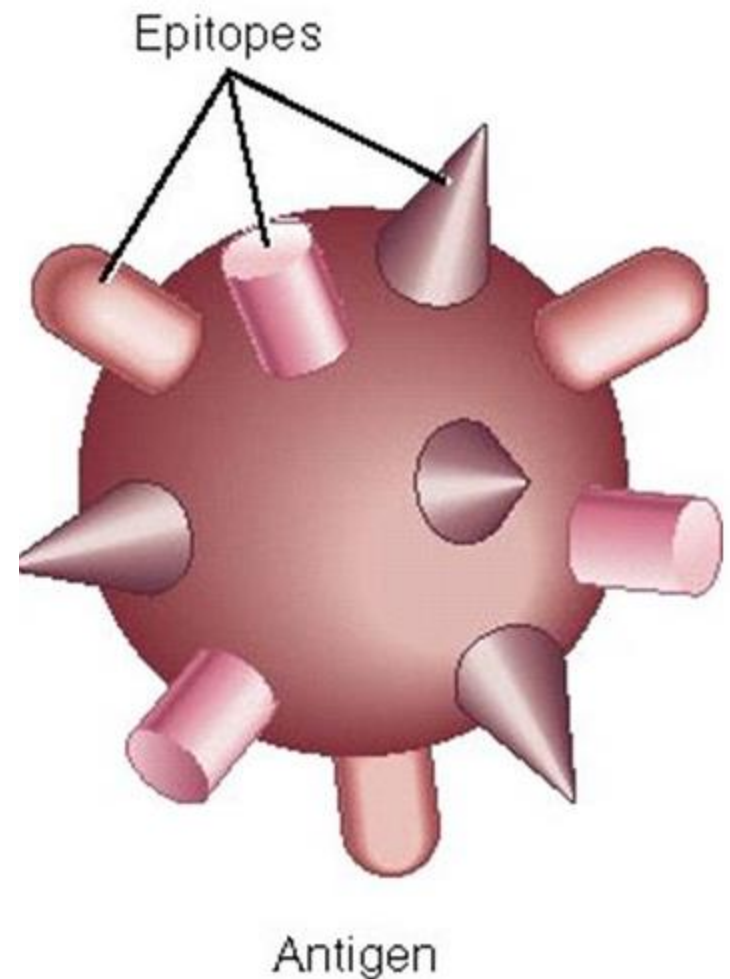
# ANTIBODY

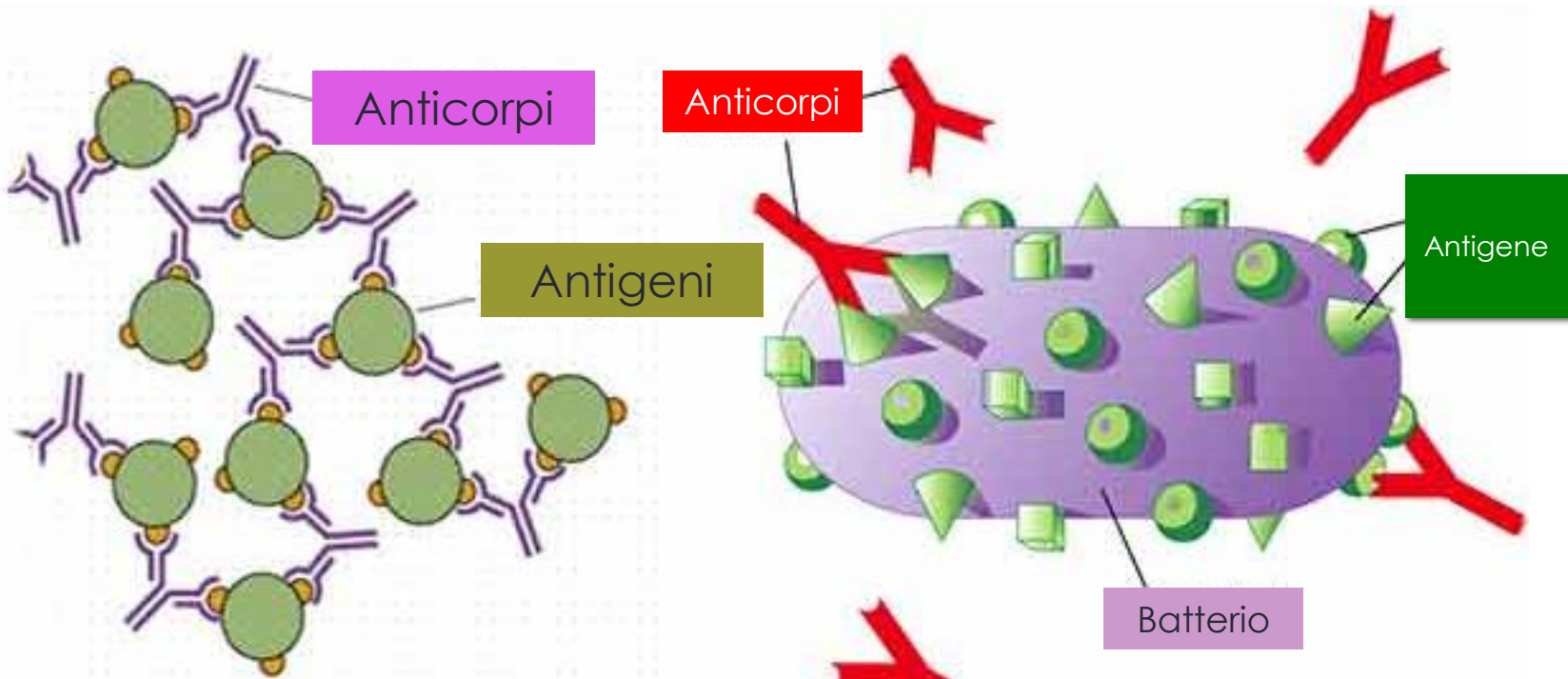
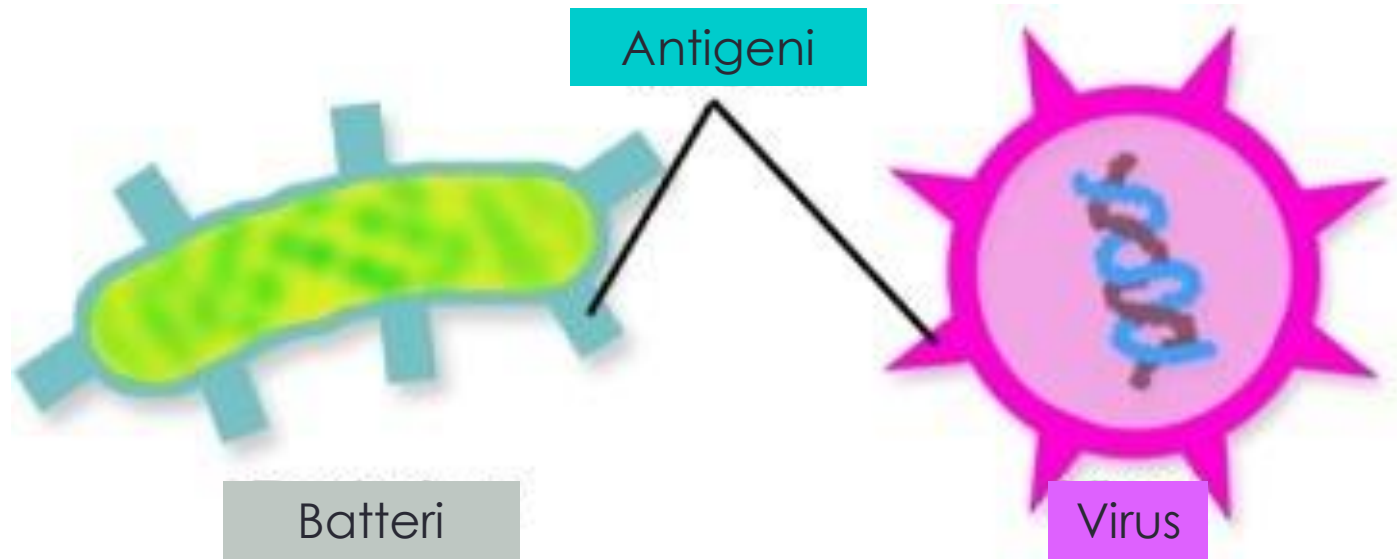
Proteins that recognize and bind to antigens.



# Caratteristiche degli antigeni: la natura chimica

- Proteine
- Polisaccaridi
- Lipopolisaccaridi
- Glicoproteine
- Ormoni
- Cellule batteriche
- Virus
- Polimeri sintetici
- Polipoptedidi sintetici

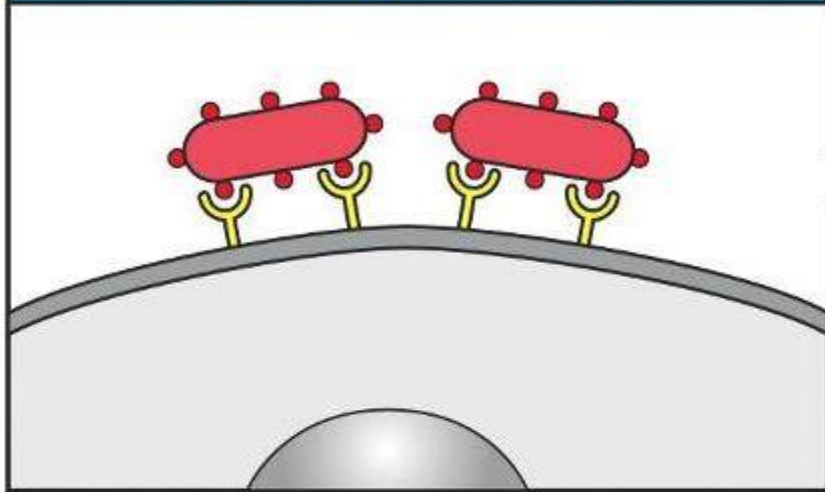




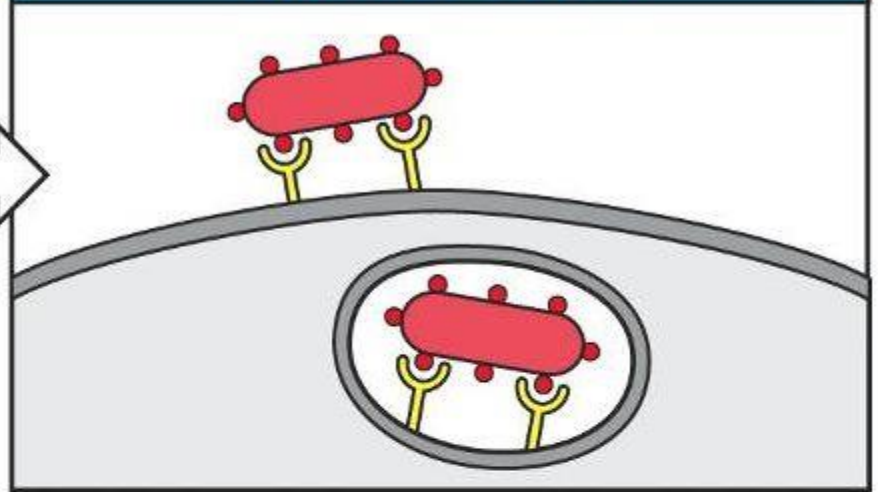




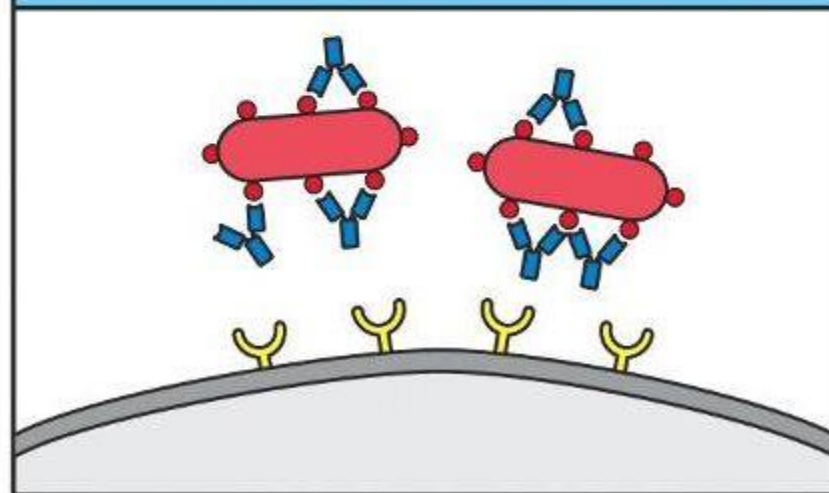
**Bacteria colonize human cell surfaces by using bacterial adhesins**

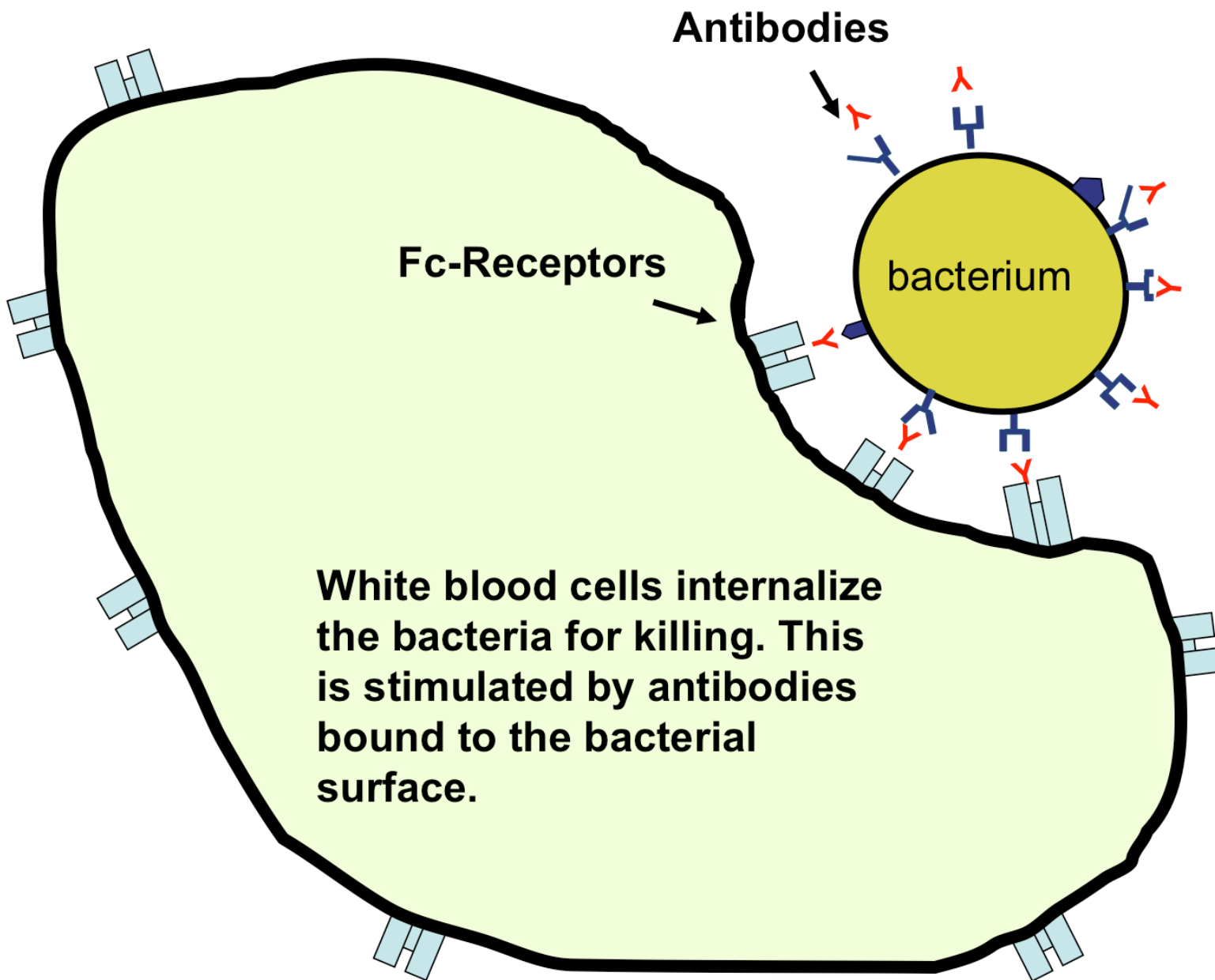


**Some species of bacteria become internalized and propagate in internal vesicles**



**Antibodies against adhesins block colonization and uptake**



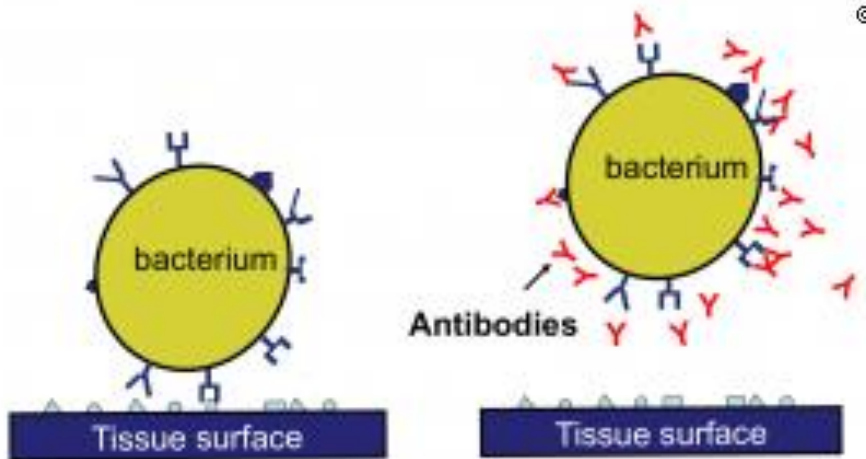
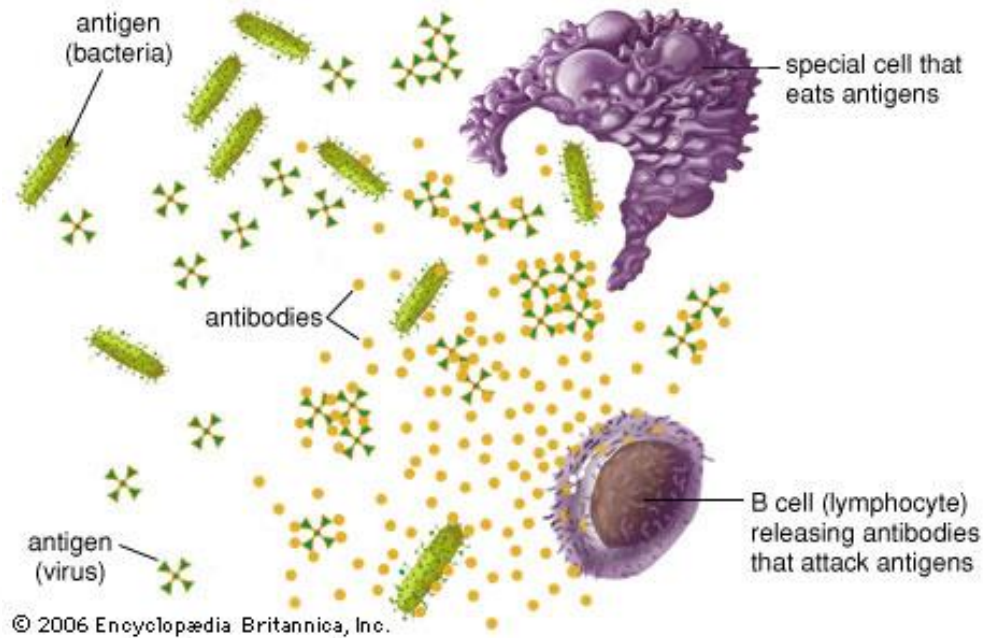


**Antibodies**

**Fc-Receptors**

**bacterium**

**White blood cells internalize the bacteria for killing. This is stimulated by antibodies bound to the bacterial surface.**



Proteins on the bacterial surface make the bacteria adhere to the tissue surface as an early step in the infectious process. These types of proteins are included in the vaccine

After vaccination, antibodies are formed blocking bacterial adherence

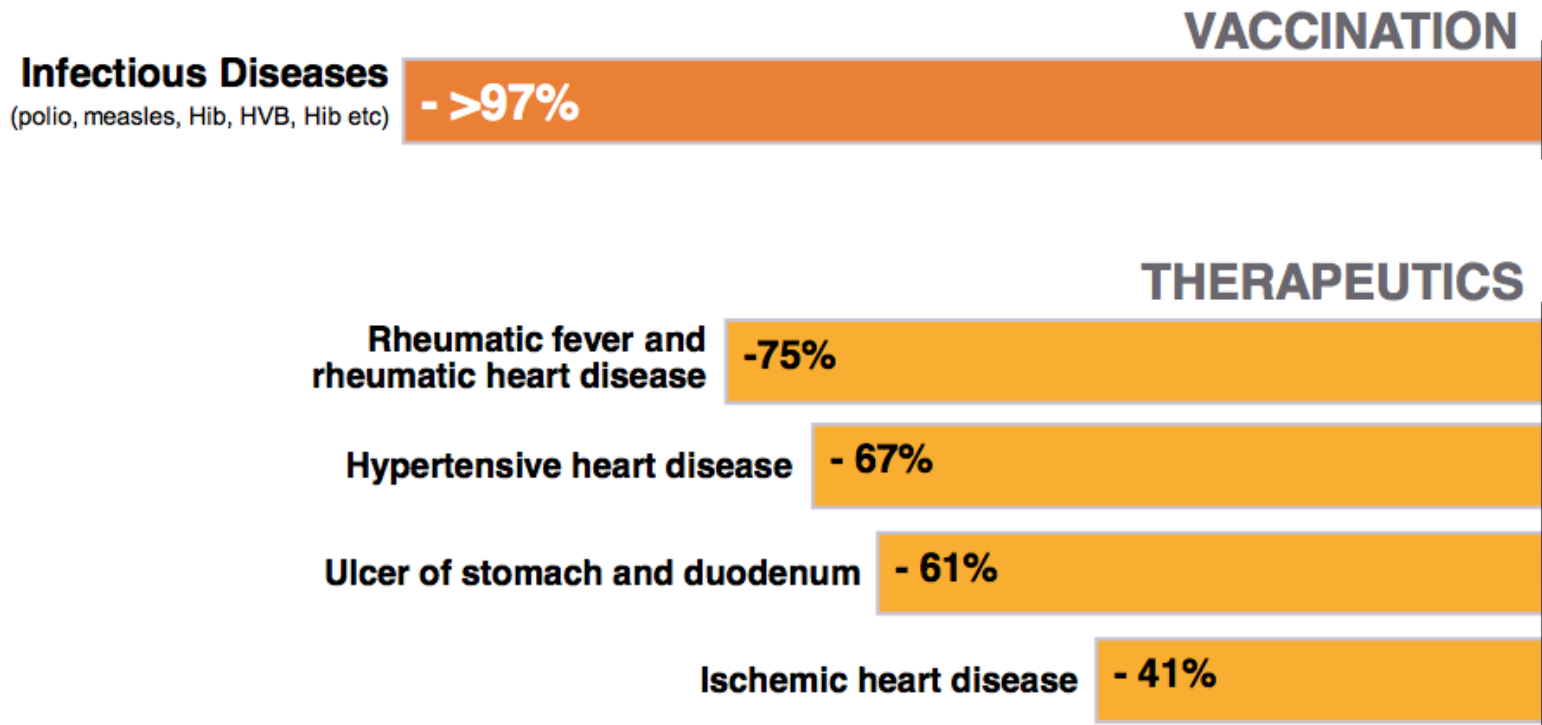
# Definizione (WHO)

- ◆ Un vaccino è una preparazione biologica che migliora l'immunità a una particolare malattia.
- ◆ Un vaccino contiene tipicamente un agente che assomiglia a un microrganismo che causa la malattia, ed è spesso costituito da forme indebolite o uccise del microbo, dalle sue tossine o da una delle sue proteine di superficie.
- ◆ L'agente stimola il sistema immunitario a riconoscere l'agente come estraneo, distruggerlo e "ricordarlo", in modo che il sistema immunitario possa più facilmente riconoscere e distruggere uno qualsiasi di questi microrganismi che successivamente incontra.



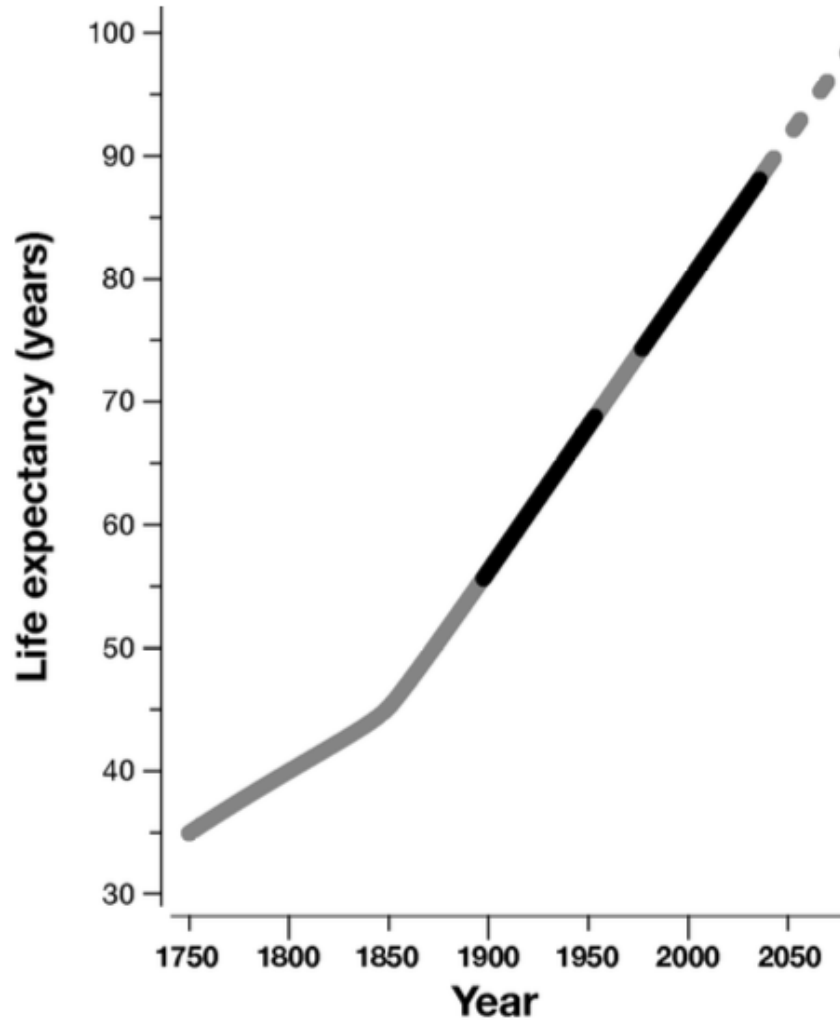
# Vaccination remains the medical intervention with highest impact on health

Drop in death rate for diseases prevented or treated with innovative medicines (pharmaceuticals)  
1965 – 1999

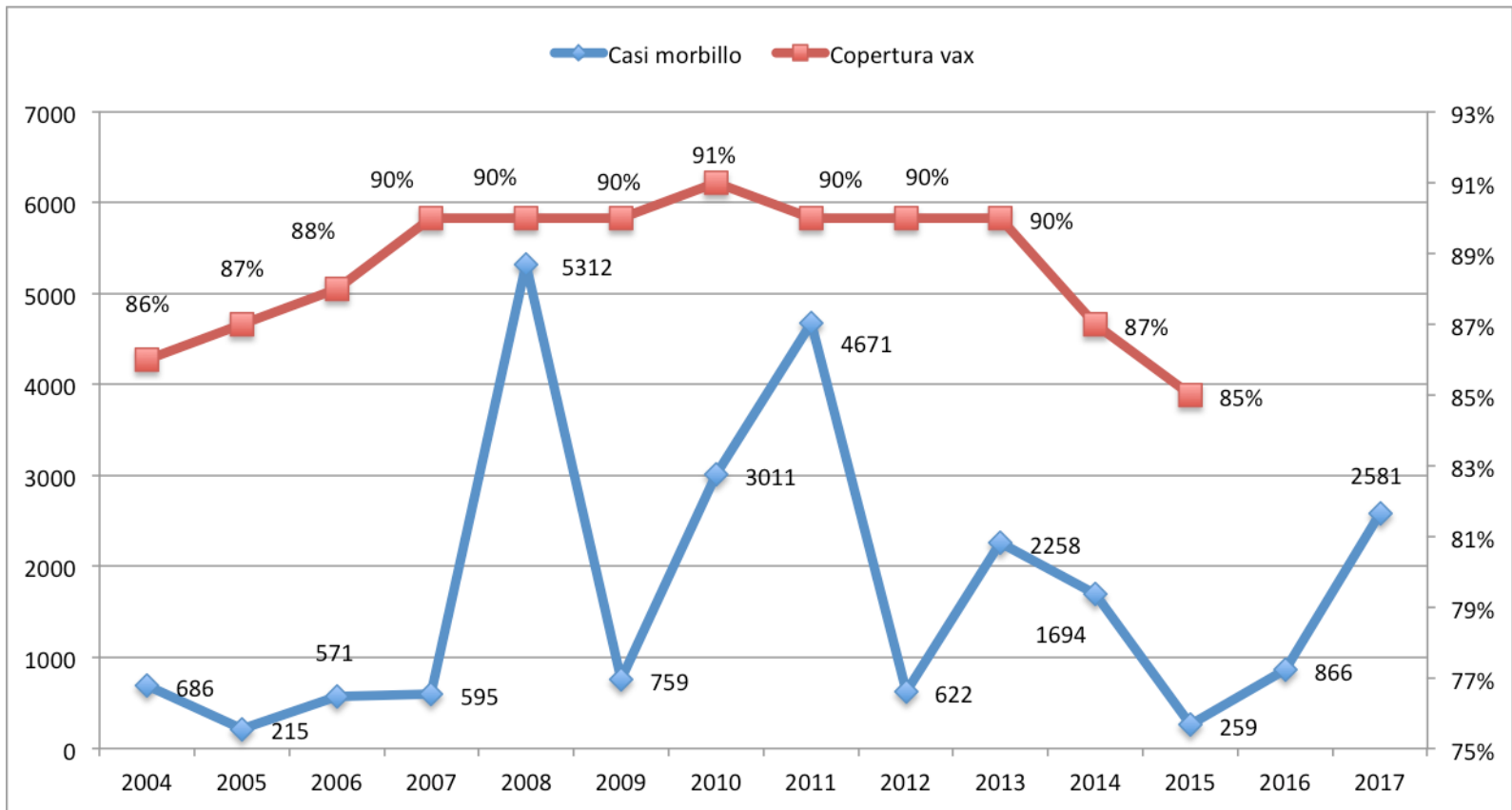


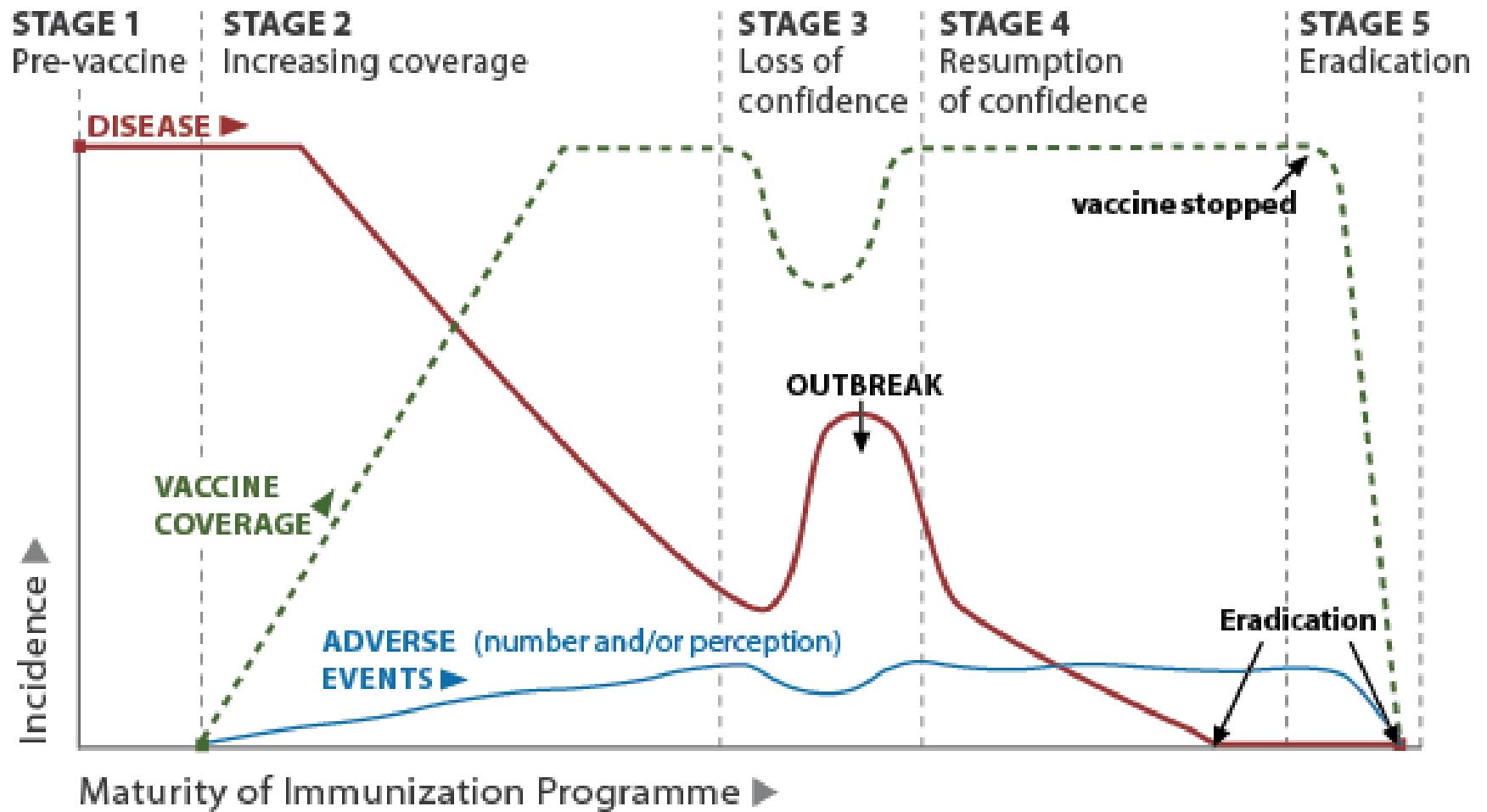
Source: EFPIA 1999 – 2002

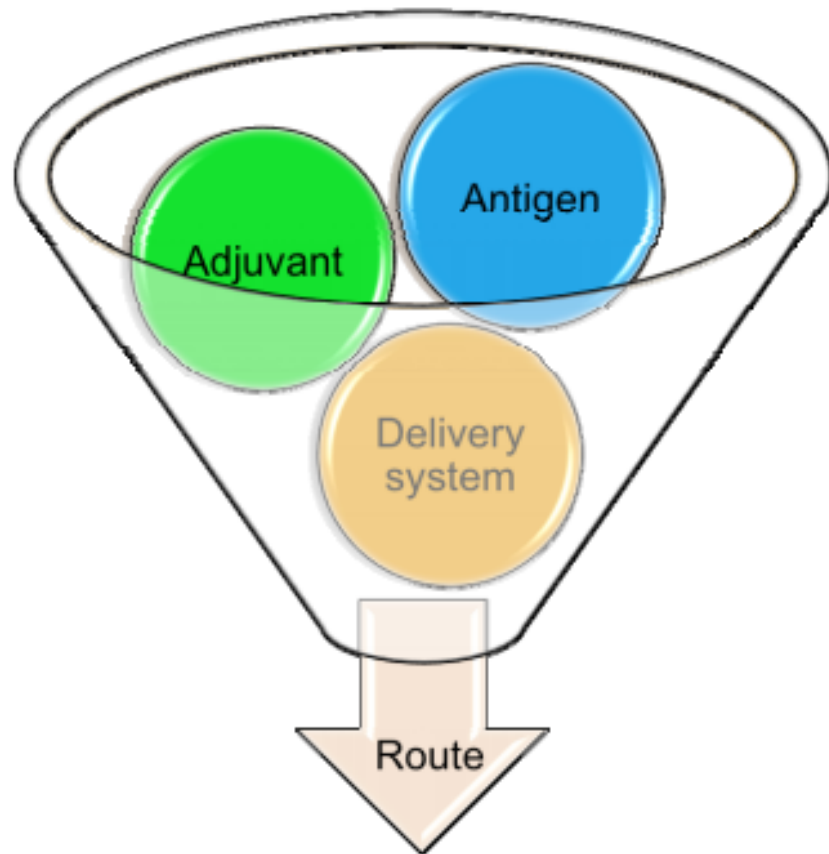
# people live longer



Which factors influenced this change?







Your “vaccine”  
Is a cocktail:  
each component  
must be assessed  
& approved  
on its own  
**AND**  
in combination



# Componenti presenti nei vaccini

- **Antigene:** componente derivato dal microorganismo, riconosciuto come “non self” e responsabile dello sviluppo della risposta immunitaria protettiva e specifica al patogeno
- **Adiuvante:** per una stimolazione della risposta immunitaria e quindi una migliore efficacia del vaccino. Aumenta, accelera e prolunga la risposta  
Usato nei vaccini inattivati ed a subunità  
es: Sali di alluminio, agonisti di TLR
- **Stabilizzatore:** per il mantenimento dell'attività del vaccino durante lo stoccaggio.  
Molto importante quando non è assicurata la catena del freddo  
Permette di evitare la lisi di molecole che possono agire sul pH...  
es: MgCl<sub>2</sub> (OPV), MgSO<sub>4</sub> (morbillo), lactose-sorbitol, sorbitol-gelatine
- **Conservante:** per prevenire contaminazioni da funghi o batteri, generalmente nei vaccini multi dose  
es: Thiomersal/Thimerosal
- **Altro:** agenti usati durante uno o diversi step della produzione e generalmente presenti in tracce (antibiotici, formaldeide).

# UN PO' DI STORIA DEI VACCINI....

Jenner, 1796  
England



First vaccine

Pasteur, 1885  
France



Anti-rabies vaccine

Salk, 1955  
United States



First Anti-Polio Vaccine

# Una prospettiva storica: L'iconografia classica ovvero la vaccinazione di Jenner contro il vaiolo

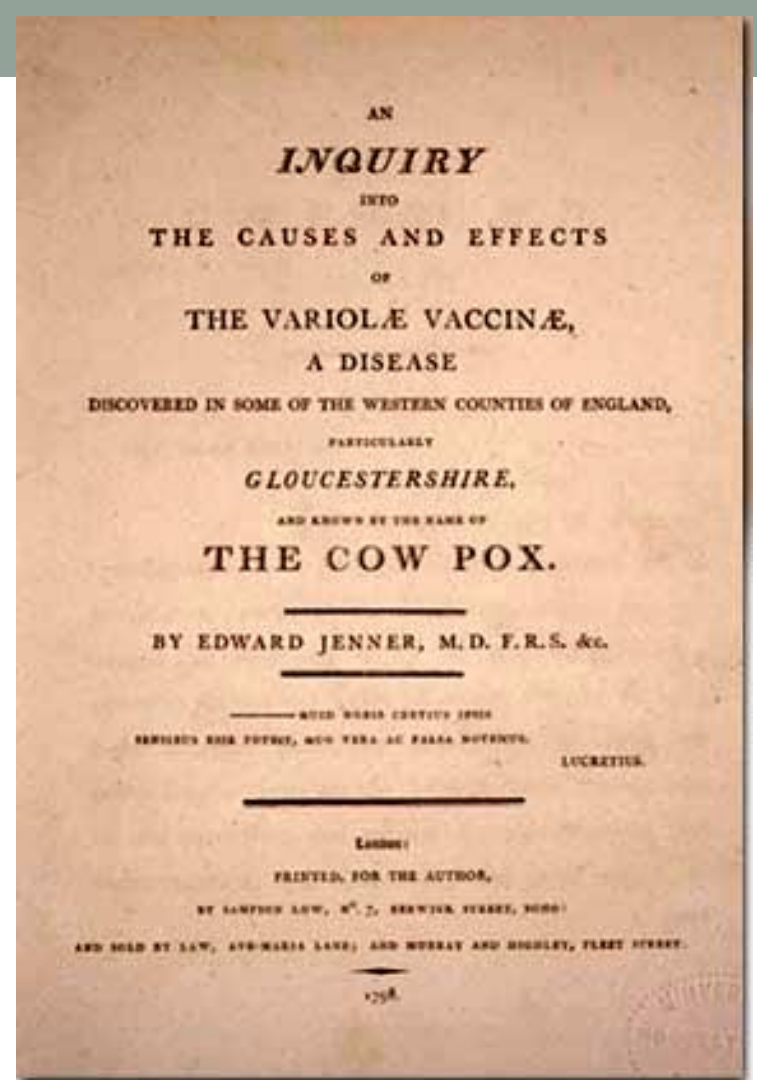


English engraving by James Gillray, 1802





**An  
Inquiry  
into  
the causes and effects  
of the Variolae Vaccinae,  
a disease discovered in some of the western  
counties of England, particularly  
Gloucestershire,  
and known by the name of  
the cow-pox**



Baxby D. 1999. Edward Jenner's Inquiry; a bicentenary analysis. *Vaccine*. 1999 Jan 28;17(4):301-7.



- Nel 1881 Pasteur annunciò la sua teoria sulla vaccinazione suscitando numerose perplessità.
- Su questo tema fu sfidato da un veterinario famoso a quell'epoca H. Rossignol che sfidò Pasteur a dimostrare pubblicamente la sua idea nella sua fattoria a Pouilly-Le-Fort.
- Pasteur raccolse la sfida insieme ai suoi colleghi Emile Roux e Charles Chamberlain.

- Nel maggio di quello stesso anno 25 pecore venivano “vaccinate” 2 volte nell'ambito di 2 settimane con l'agente infettivo dell'antrace (*Bacillus anthracis*) “attenuato”, cioè mantenuto a 42° per 2 settimane. Altre 25 non ricevevano il vaccino.
- Alla fine di maggio entrambi i gruppi di animali furono infettati con un ceppo altamente virulento di *B. anthracis*. Dopo due giorni un comitato composto da fattori, veterinari, farmacisti e funzionari del Governo osservarono i risultati che furono quelli attesi: le pecore vaccinate erano protette dall'antrace e le altre 25 morirono. Il vaccino fu subito diffuso e nel **1882, 79000** pecore furono già vaccinate contro l'antrace.



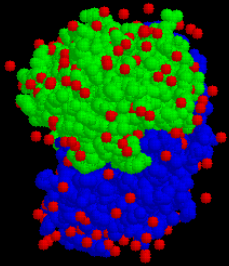
# Albert Calmette e Camille Guerin: il moderno vaccino contro la tubercolosi.



Albert Calmette e Camille Guerin

- Albert Calmette e Camille Guerin coltivarono *Mycobacterium bovis* l'agente eziologico della tubercolosi nei bovini, originariamente isolato nel 1902 da un vitello, per 13 anni effettuando 213 passaggi in coltura. Il bacillo che ne derivò, chiamato poi BCG, da Bacillus Calmette -Guérine, si rivelò essere avirulento nel modello della cavia, altamente suscettibile a questa infezione.
- Nel 1921 il BCG fu usato per la prima volta nell'uomo e venne dato per via orale ad un neonato la cui madre era morta per tubercolosi.
- Alla fine degli anni 20' circa 50 000 francesi erano stati vaccinati per via orale contro la tubercolosi mediante il BCG. Il vaccino si dimostrava ben tollerato.
- Negli anni 30' la vaccinazione intradermica soppiantò quella orale.
- Negli anni 50 studi epidemiologici confermarono l'efficacia del BCG.

# I tossioidi come vaccini



- Edwin Klebs e Frederick Loeffler diedero un contributo importante alla scoperta dell' agente eziologico della difterite mentre Shibasaburo Kitesato identificò l' agente eziologico del tetano.
- In breve tempo, usando i filtrati delle colture di *Corynebacterium diphtheriae* e *Clostridium tetani* furono identificate le relative tossine.
- Dalle tossine si arrivò alla formulazione di specifiche antitossine per la protezione passiva e di miscele di tossine/antitossine per la protezione attiva.
- Infine si scoprì che il trattamento con formalina delle tossine ne impediva l' azione tossica mantenendo la capacità immunostimolatoria.
- Nel 1905 Alexander Glenny individuò questo principio casualmente. Un lotto di tossina difterica era mantenuto in alcuni recipienti la cui sterilizzazione comportava un lavaggio in formalina. Glenny ipotizzò che questo step non fosse stato correttamente condotto e che i residui di formalina lasciati nei contenitori potessero essere stati sufficienti ad inattivare la tossina.

# I diversi tipi di vaccini in commercio

→ Caratterizzati dal tipo di antigene presente nella preparazione

## Live attenuated (LAV)

- Tuberculosis (BCG)
- Oral polio vaccine (OPV)
- Measles
- Rotavirus
- Yellow fever

## Inactivated (killed antigen)

- Whole-cell pertussis (wP)
- Inactivated polio virus (IPV)

## Subunit (purified antigen)

- Acellular pertussis (aP),
- *Haemophilus influenzae* type B (Hib),
- Pneumococcal (PCV-7, PCV-10, PCV-13)
- Hepatitis B (HepB)

## Toxoid (inactivated toxins)

- Tetanus toxoid (TT),
- Diphtheria toxoid

# Vaccini interi inattivati

Pertosse (whole cell wP)



Poliomielite (IPV)



## Generalità

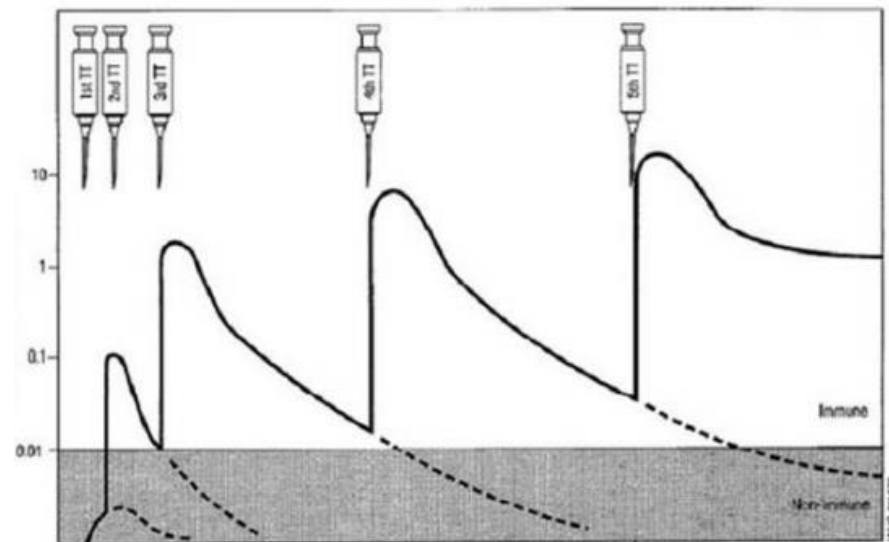
- Patogeno (batterio o virus) inattivati attraverso un processo fisico o chimico in condizioni di laboratorio
- Non inducono la malattia

## Risposta immunitaria

- Non sempre inducono una risposta immunitaria
- Risposta immunitaria non sempre permanente
- Possono essere richieste diverse iniezioni
- Può essere necessario l'uso di un'adiuvante

## Sicurezza e stabilità

- Non inducono la malattia
- Più stabili rispetto ai vaccino viventi



# Vaccini viventi attenuati (LAV)

*Tubercolosi*



*Poliomielite (Orale)*

*Morbillo*

*Rotavirus*

*Febbre gialla*



## **Generalità**

- Disponibili dagli anni 50
- Patogeno (batterio o virus) attenuato in condizioni di laboratorio
- Si moltiplicano nel soggetto vaccinato
- non inducono malattia

## **Risposta immunitaria**

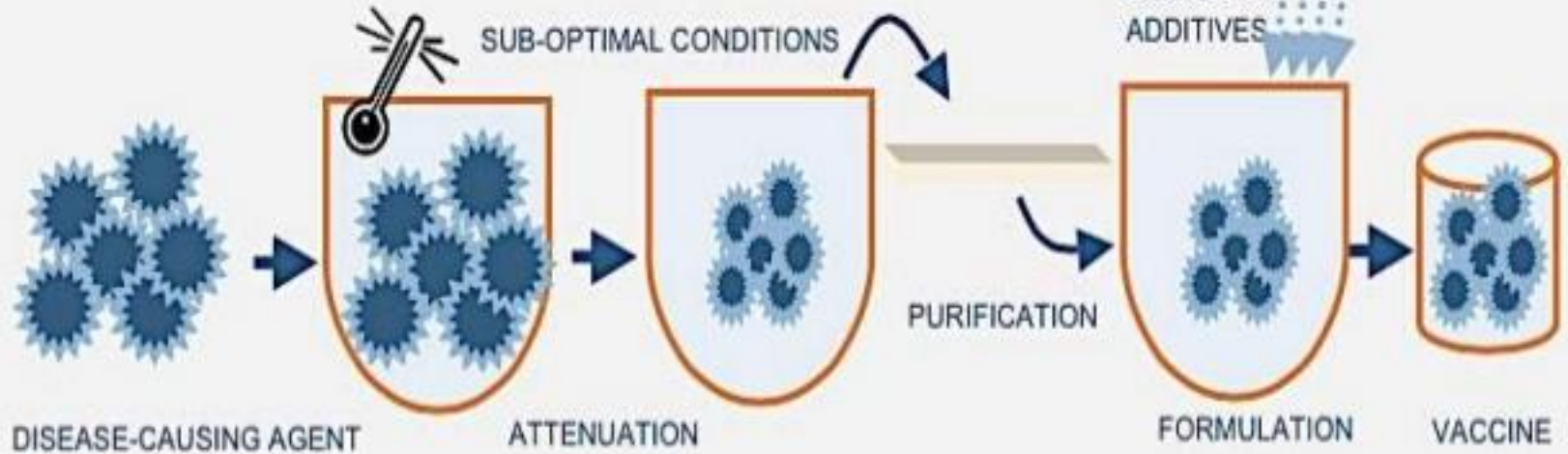
- Potente, quasi quanto indotta dal patogeno selvatico
- Stimolazione antigenica continua che permette una buona produzione di cellule della memoria
- Immunità cellulo-mediata per i microorganismi intracellulari

## **Sicurezza e stabilità**

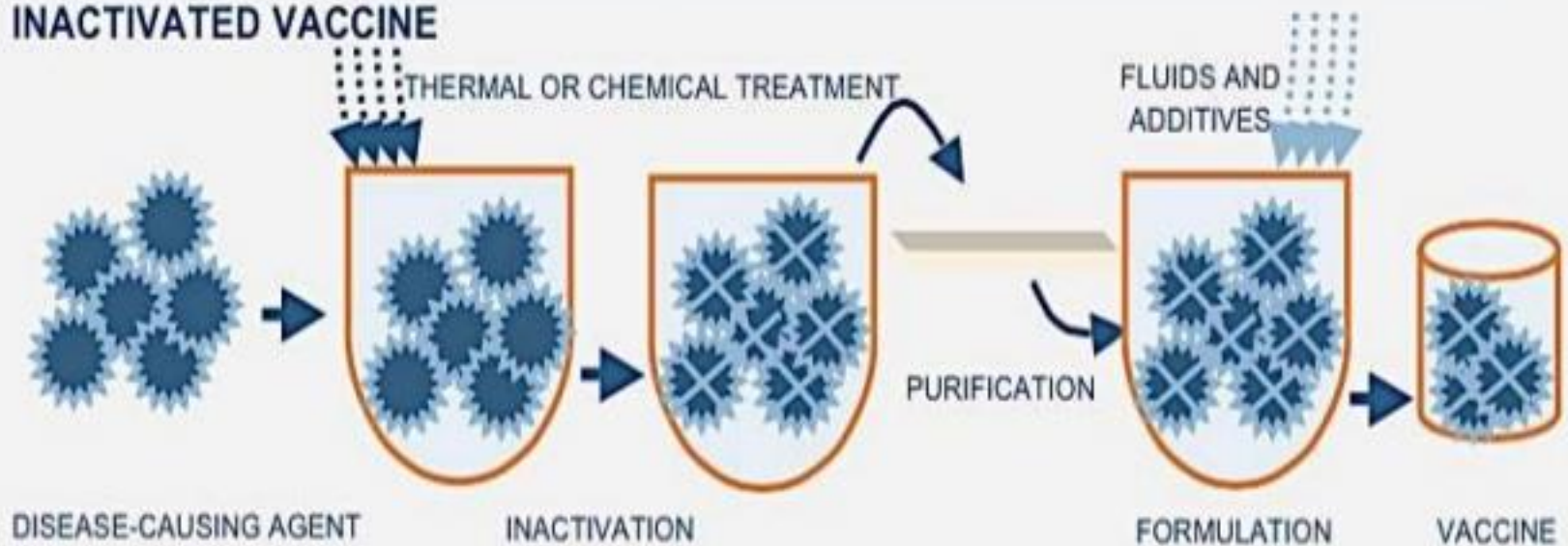
- Possibile, anche se rara, reversione nella variante virulenta (nel passato)
- Contaminazione di colture cellulari
- Non adatto per individui immunodepressi (es. HIV)
- Di solito non adatto per donne in gravidanza



## LIVE-ATTENUATED VACCINE



## INACTIVATED VACCINE





# La poliomielite

- Virus della famiglia dei **Picornaviridae**  
genere **Enterovirus**  
specie **poliovirus**  
3 sierotipi: PV1, PV2 et PV3



- L'infezione viene trasmessa per contatto inter-umano, per via oro-fecale
- Il virus si moltiplica nell'intestino e dallo 0,1 all'1% dei casi il virus, trasportato dal sangue, raggiunge il midollo spinale e porta ad una **poliomielite paralitica**.



Stele egiziana



# Poliovirus

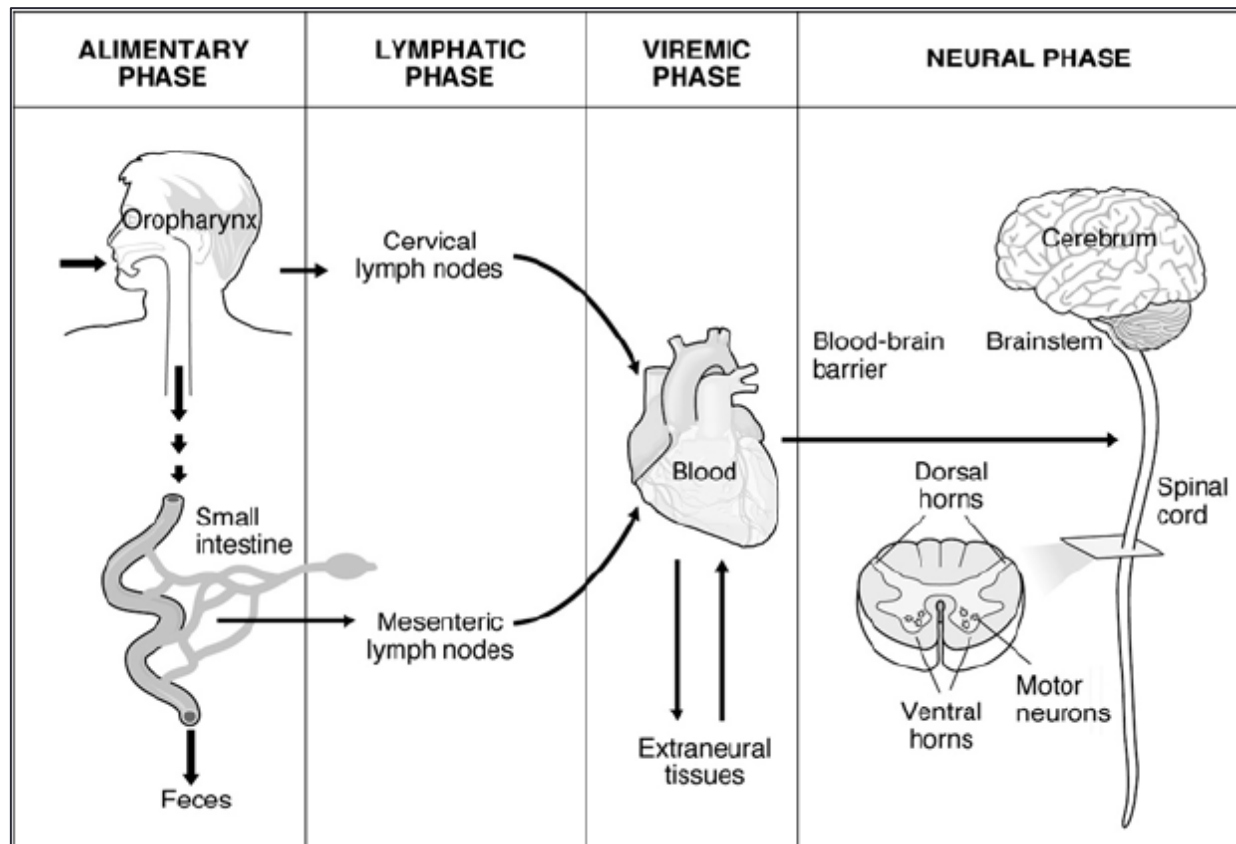
- Three serotypes exist for polio

**1. Poliovirus type 1 (WPV1)**

**2. Poliovirus type 2 (WPV2):** considered eradicated, the last naturally occurring case was detected in India in 1999

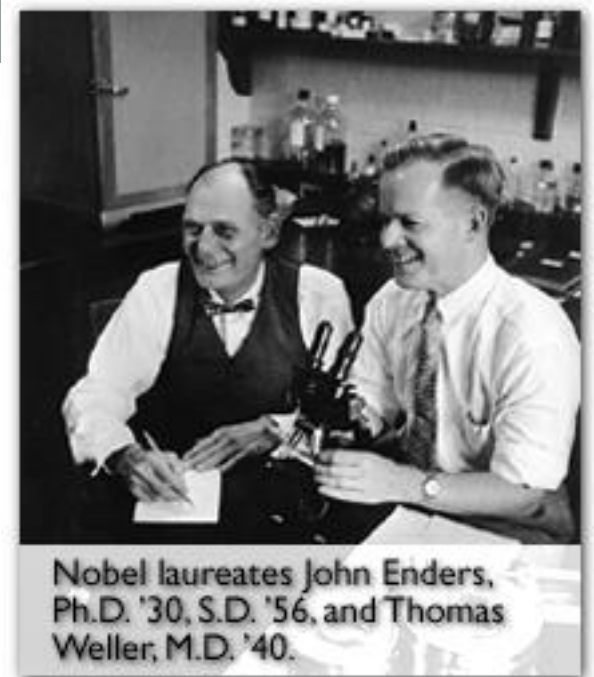
**3. Poliovirus type 3 (WPV3):** no cases reported since 2012

## Polioviruses: pathogenesis





P 28 # 43



Nobel laureates John Enders, Ph.D. '30, S.D. '56, and Thomas Weller, M.D. '40.

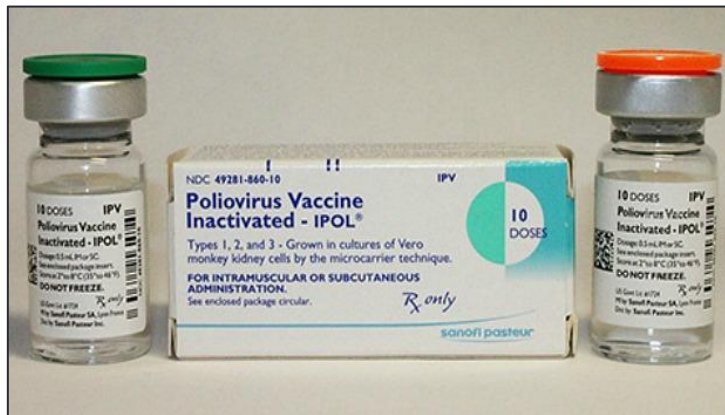
Thomas Weller, Frederick Robbins, John Enders, vincitori del premio Nobel nel 1954 per aver sviluppato le culture cellulari sulle quali può crescere il virus della poliomelite

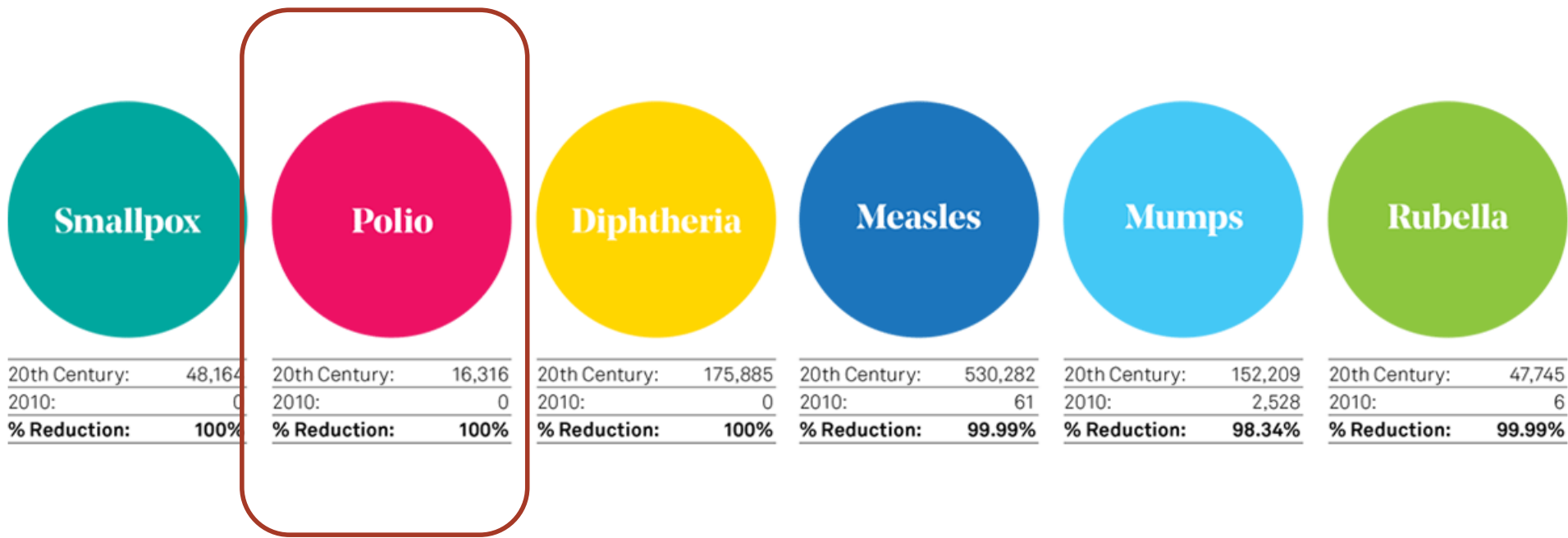
# Polioviruses and Vaccines

- Two vaccines are used throughout the world to protect against polio:

**1. IPV** – inactivated poliovirus vaccine

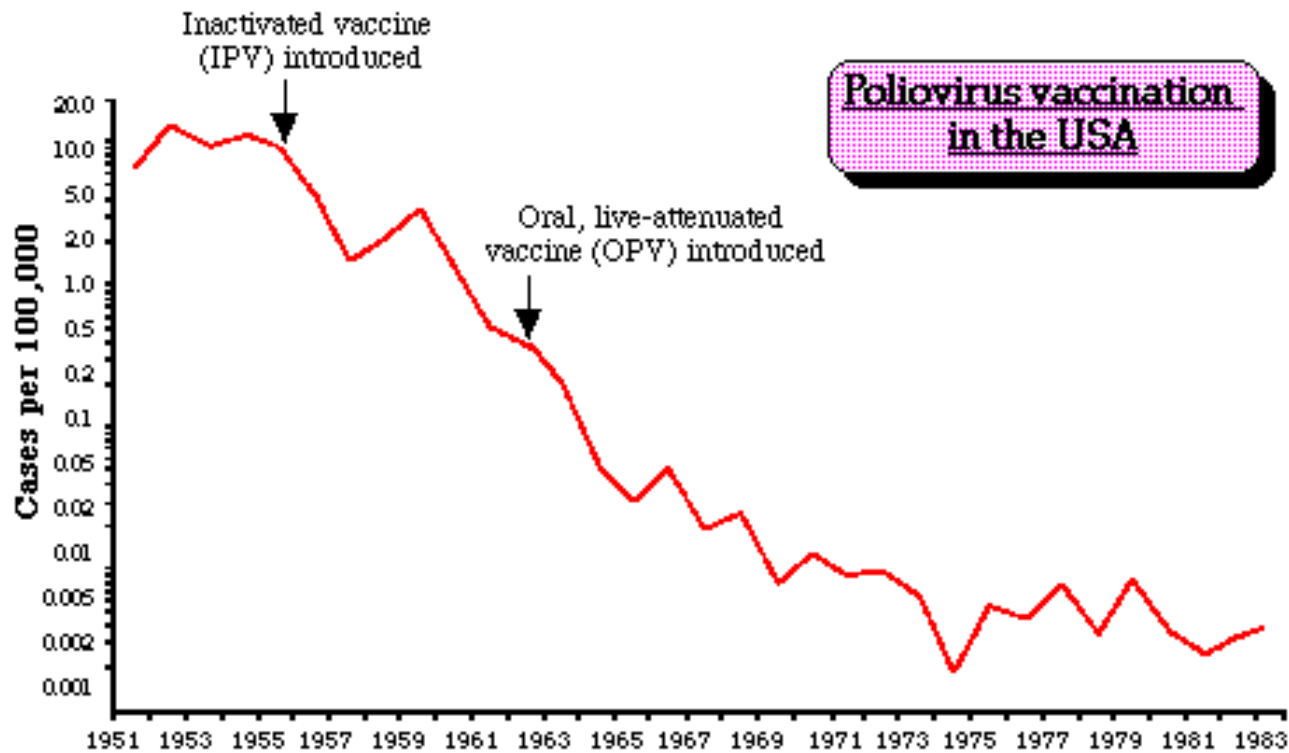
**2. OPV** – live attenuated oral poliovirus vaccine





Dati in USA, CDC Atlanta





## Il Vaccino di Salk (Jhonas salk- 1914-19995): il vaccino inattivato

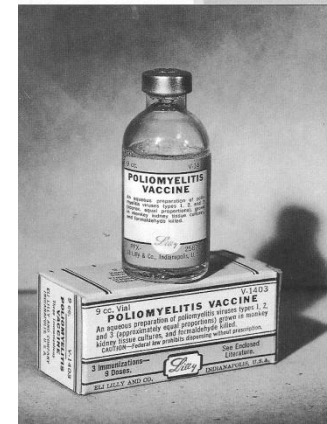


E' stato il primo vaccino ad essere stato usato contro la poliomelite. Tuttavia all'inizio fu ritirato subito dal commercio in quanto una delle compagnie- La Cutter- che lo producevano aveva commesso degli errori nella inattivazione del virus (due batches). Centinaia di persone vaccinate contrassero la malattia. I loro familiari furono messi a rischio.

Tuttavia il vaccino di Salk fu un grande successo. All'inizio degli anni Sessanta, negli Stati Uniti si registravano ormai solo alcune centinaia di casi, molti meno se si pensa ai 50.000 di dieci anni prima.

## Inactivated Polio Vaccine IPV

- Tre *poliovirus* virulenti
  - Mahoney (type 1 *poliovirus*)
  - MEF-1 (type 2 *poliovirus*)
  - Saukett (type 3 *poliovirus*)
- Coltura in cellule Vero (cellule renali di scimmia)
- Inattivati con formaldeide



- +++ :
  - Induce la produzione di anticorpi sierici anti-polio
  - Previene la disseminazione dal sangue e quindi le forme paralitiche
  - Senza effetti secondari
- --- :
  - Costoso
  - Deve essere distribuito da personale medico
  - Immunità breve: necessità di fare boost
  - Non sviluppa un'immunità locale e quindi non previene l'infezione a livello intestinale

## Il vaccino di Sabin: il vaccino attenuato

Allo stesso tempo, Sabin aveva fatto dei progressi con il vaccino attenuato ed i trials, effettuati in URSS, avevano dato risultati altamente soddisfacenti. Quindi il suo vaccino soppiantò quello di Salk e per la prima volta nella storia il Governo Federale degli USA entrò nella politica dei vaccini e stanziò dei fondi per promuovere la diffusione del vaccino.

**CDC:** centers for Disease Control and Prevention

### → **MOPV Monovalent Oral Polio Vaccine (Sabin 1955):**

Vaccino orale composto da un solo sierotipo di *poliovirus* attenuato.

→ Ne conseguirà l'OPV trivalente nel **1963**

Virus coltivati in cellule epiteliali derivate dal rene di scimmia (Vero cell) ad una temperatura sub-fisiologica



©



Polio vaccine type data included in WHO countries only.

Polio vaccine use in routine immunization by countries

- IPV only, n = 46
- †Planned IPV intro (sequential or mixed with OPV), n = 143
- OPV only, n = 0
- Information on introduction plans currently unavailable, n = 5

2016



# La vaccinazione contro la poliomielite

- Prima del vaccino contro la poliomielite, circa 13000-20000 persone rimanevano paralizzate e circa 1000 morivano ogni anno negli stati uniti
- L'OMS avviò il **Programma di eradicazione della poliomielite** (Global Polio Eradication Initiative : GPEI)  
[www.polioeradication.org](http://www.polioeradication.org)
- In Italia la vaccinazione contro la poliomielite è **obbligatoria dal 1966**
- In Italia, l'ultimo caso di poliomielite autoctona si è verificato nel **1983. Negli USA l'ultimo caso positivo risale al 1979**
- **2012: in soli 3 paesi al mondo la poliomielite rimane endemica**  
la Nigeria, l' Afghanistan e il Pakistan



Nel 1994 l'Organizzazione Mondiale per la Sanità ha dichiarato scomparso in natura il virus della poliomielite – perlomeno in Occidente.

<https://www.bbc.com/news/world-africa-53887947>

# Vaccini a subunità (3)

*Proteici*

*Polisaccaridi*

*Coniugati*

## Vaccini a tossoidi o tossine inattivate

Difterite  
Tetano



### Generalità

- Vaccini diretti contro la tossina di un batterio quando la tossina è responsabile della sintomatologia
- Tossina (o parte) proteica inattivata non tossica

### Risposta immunitaria

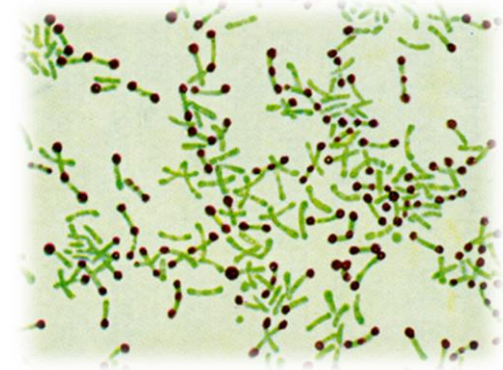
- Risposta immunitaria debole
- Diverse iniezioni sono necessarie
- Si rende necessario l'utilizzo dell'adiuvante

### Sicurezza e stabilità

- Sicuro
- Molto stabili

# Difterite: generalità

- *Corynebacterium diphtheriae*  
*Corynebacterium ulcerans*  
*Corynebacterium pseudotuberculosis*
- Bacillo Gram positivo
- Producono la tossina difterica responsabile della sintomatologia. La tossina viene portata da un batteriofago.
  
- Infezione delle vie respiratorie che può indurre
  - paralisi del sistema nervoso centrale
  - paralisi dei muscoli delle vie respiratorie
  
- Colpisce generalmente i bambini di età compresa fra i 9 mesi e i 15 anni  
→ immunità naturale



*C. diphtheriae* colorati con la tecnica di Albert  
Inclusioni di polifosfati chiamati “volutina”

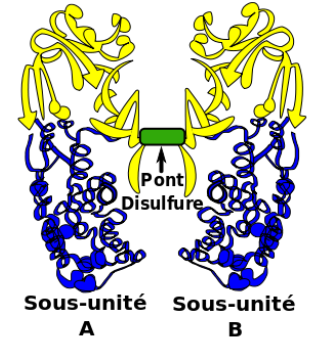


Source: Center for Disease Control and Prevention's Food and Nutrition Program, October 2004



# Difterite: il vaccino

- ❑ Esotossina prodotta da un fago presente nel batterio
- ❑ Sequenza di 538 aa
- ❑ Precursore proteico di 62 kDa formato da due subunità
  - ❑ A: responsabile dell'attività tossica
  - ❑ B: lega il recettore cellulare
- ❑ Attivazione della tossina dopo il taglio delle due subunità nell'endosoma acidificato
- ❑ Vaccino consiste nella tossina inattivata
  - Tossina purificata da colture di *C. diphtheriae* e poi inattivate tramite un trattamento con la formaldeide
  - Produzione della tossina mutata da parte di *C. diphtheriae*
  - Es: la specie *C. diphtheriae* C7 ( $\beta$ 197) produce una tossina non tossica CRM197
  - Produzione della tossina mutata ricombinante
- ❑ L'anatossina viene adsorbita sui sali d'alluminio



# Vaccini a subunità (2)

- ➔ **Proteici**
- ➔ *Polisaccaridi*
- ➔ *Coniugati*

Contengono proteine specifiche isolate dal patogeno

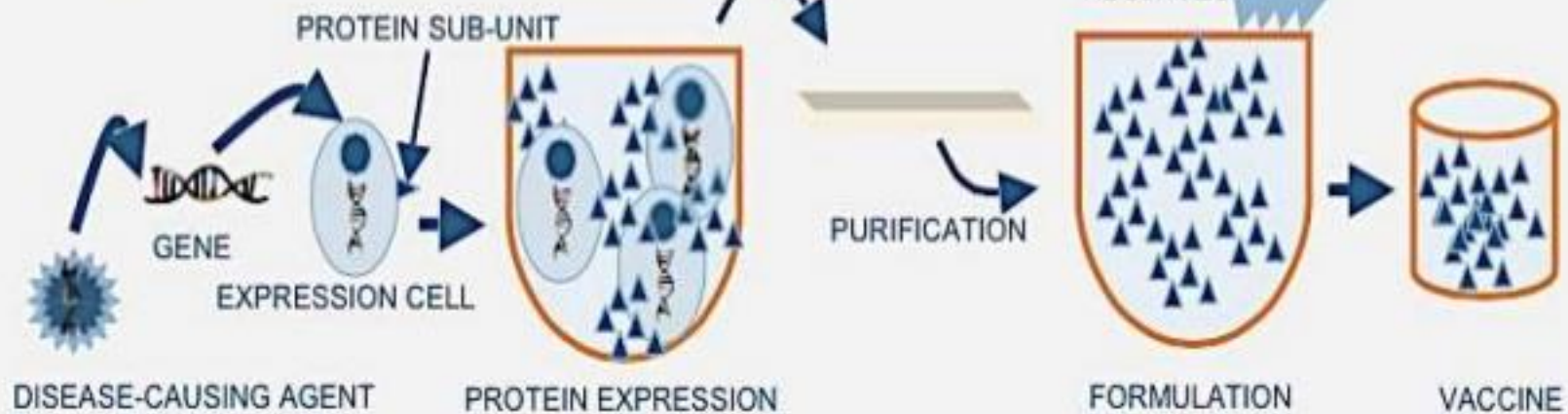
Uno svantaggio:

Una denaturazione della proteina può influenzare il legame con gli anticorpi

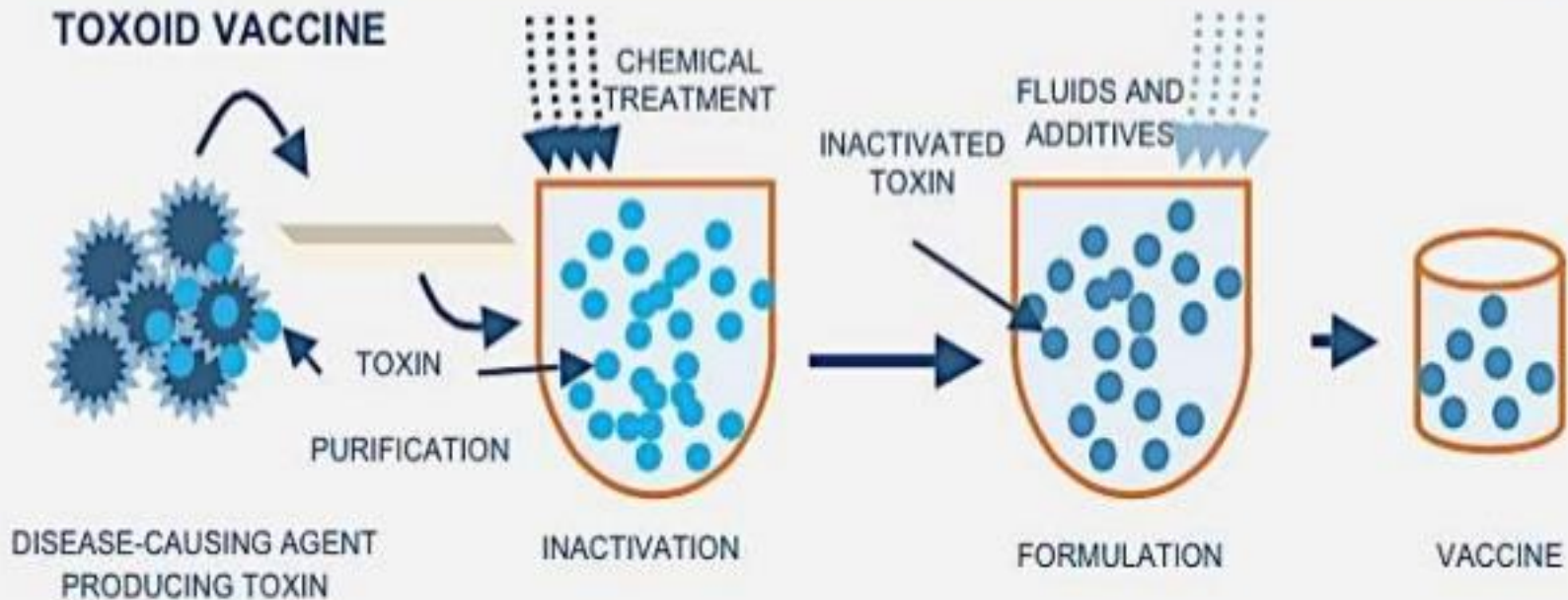
→ *Pertosse: acellular pertussis (aP)* 

→ *Epatite B (HepB)* 

## RECOMBINANT SUB-UNIT VACCINE



## TOXOID VACCINE



# Vaccini a subunità (3)

→ *Proteici*

→ ***Polisaccaridi***

→ *Coniugati*

Bersaglio: batteri circondati da una capsula polisaccaridica che aiuta il microorganismo ad evadere il sistema immunitario

Il vaccino polisaccaridico sviluppa una risposta contro delle molecole della capsula

Spesso queste molecole sono poco immunogeniche.

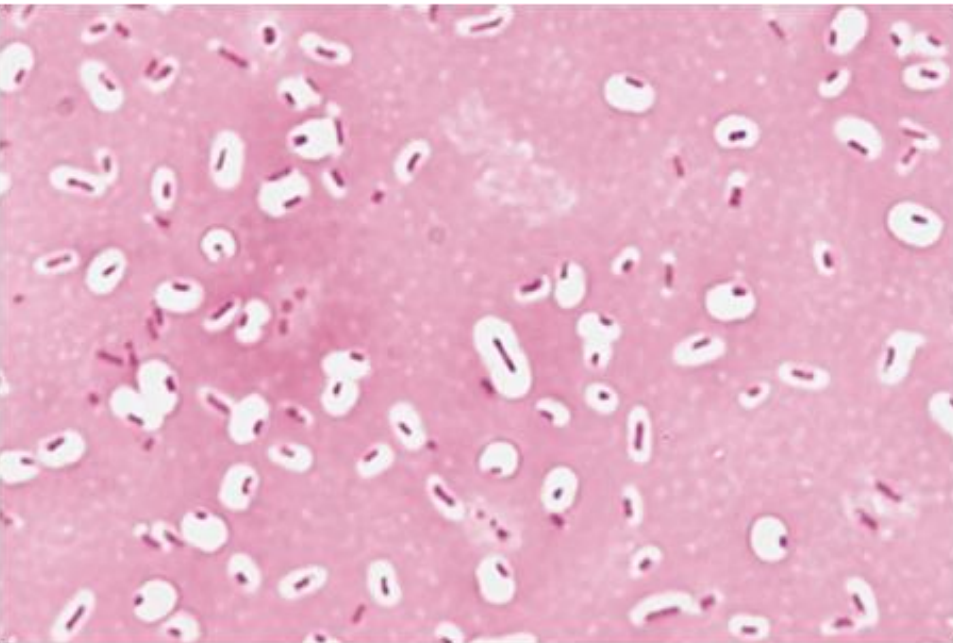
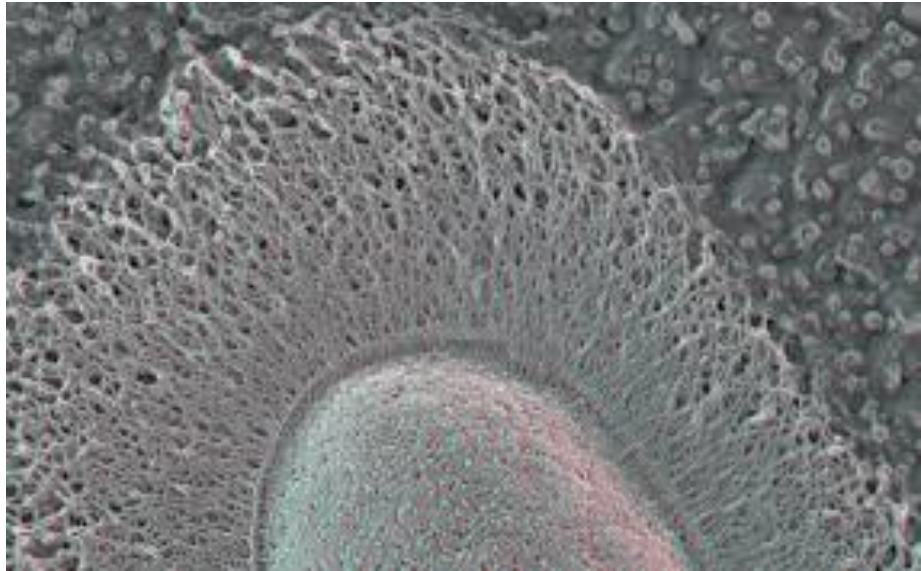
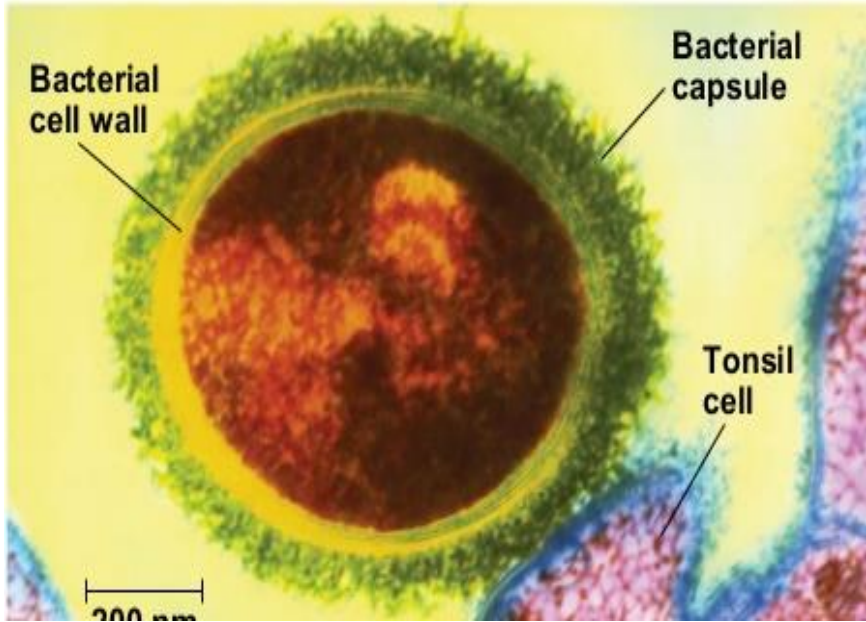
- I neonati e i bambini (<24 mesi) non rispondono
- Gli altri hanno una risposta immunitaria poco efficiente: **attivazione esclusiva dei linfociti B**
  - Risposta immunitaria lenta
  - Livello di anticorpi bassi
  - Assenza di cellule della memoria

→ *Meningococco*

→ *Pneumococco*











# Vie di somministrazione

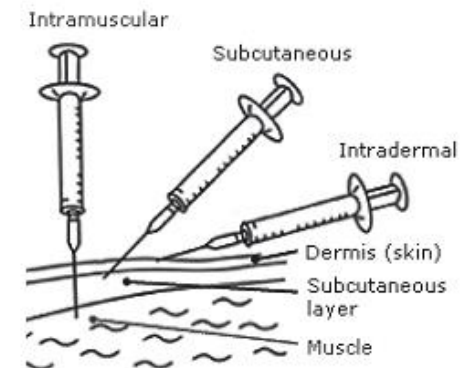
## □ Via di somministrazione

Scelto rispetto alla composizione e raccomandato dal produttore

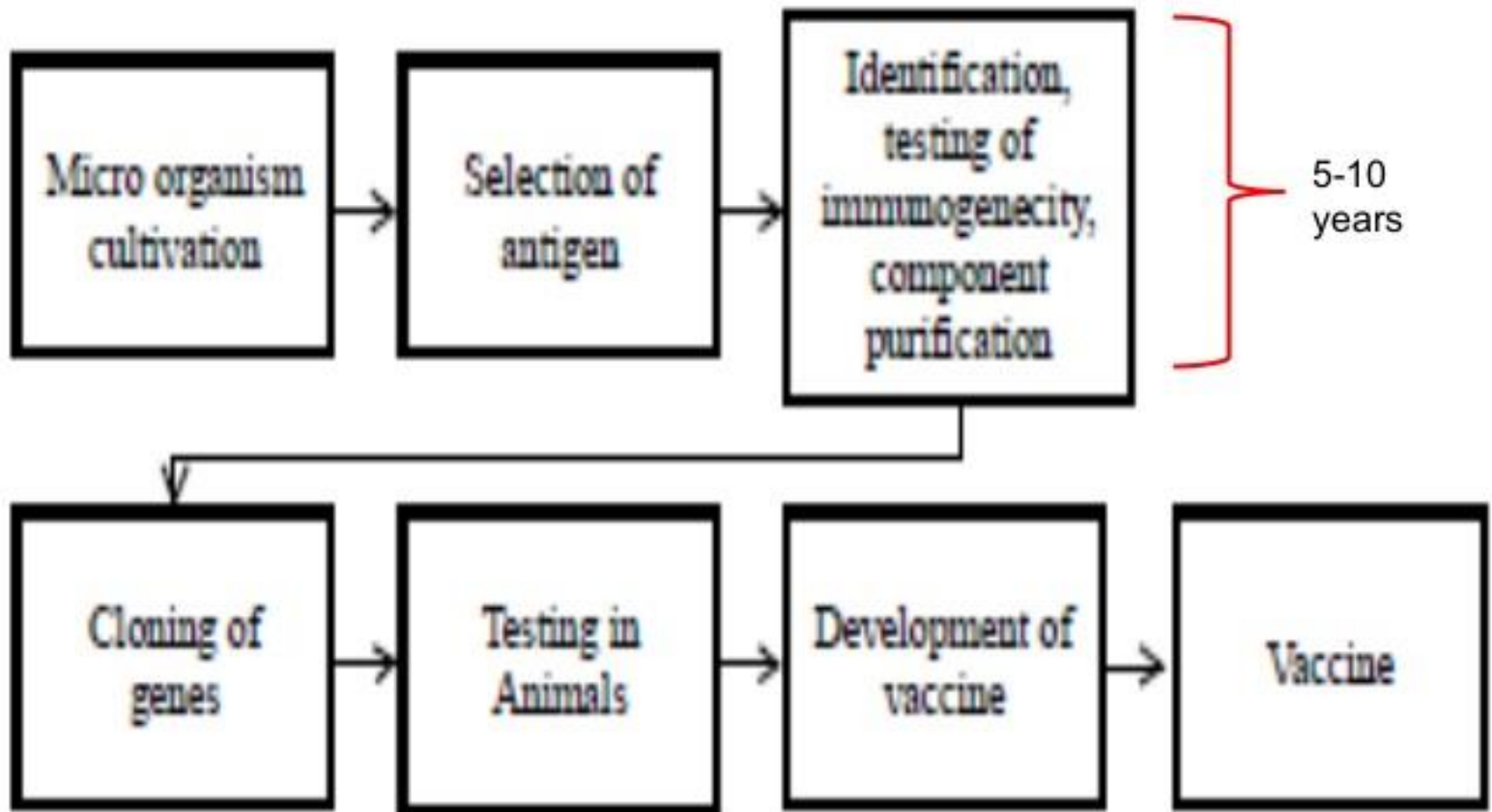
→ per ottimizzare l'efficacia

→ per limitare gli effetti secondari

- **Intramuscolare** (generalmente per vaccini contenente un adiuvante)  
→ HepB, IPV, DTP, Hib...
- **Intradermico**  
→ solo il BCG è iniettato con questa via
- **Subcutaneo**  
→ febbre gialla, morbillo...
- **Orale**  
→ OPV, rotavirus
- **Intranasale** (spray)  
→ influenza
- **Sublinguale**
- **Via "Patch"**
- ....



# Conventional Vaccinology



# GOALS

Infectious agent  
Epidemiology of a disease  
Antigen Research

Immunogenicity - immune response needed to prevent disease  
Challenge studies in animal models  
Safety studies - no toxicities that would prevent their use in people

Immunogenicity  
Local/systemic reactions

Optimal dose/schedule in target population  
Safety assessment

Efficacy in target populations  
Safety assessment

Step 1: Lab Studies

Step 2: Animal Studies

Pre-clinical

Clinical Phase I

Clinical Phase II

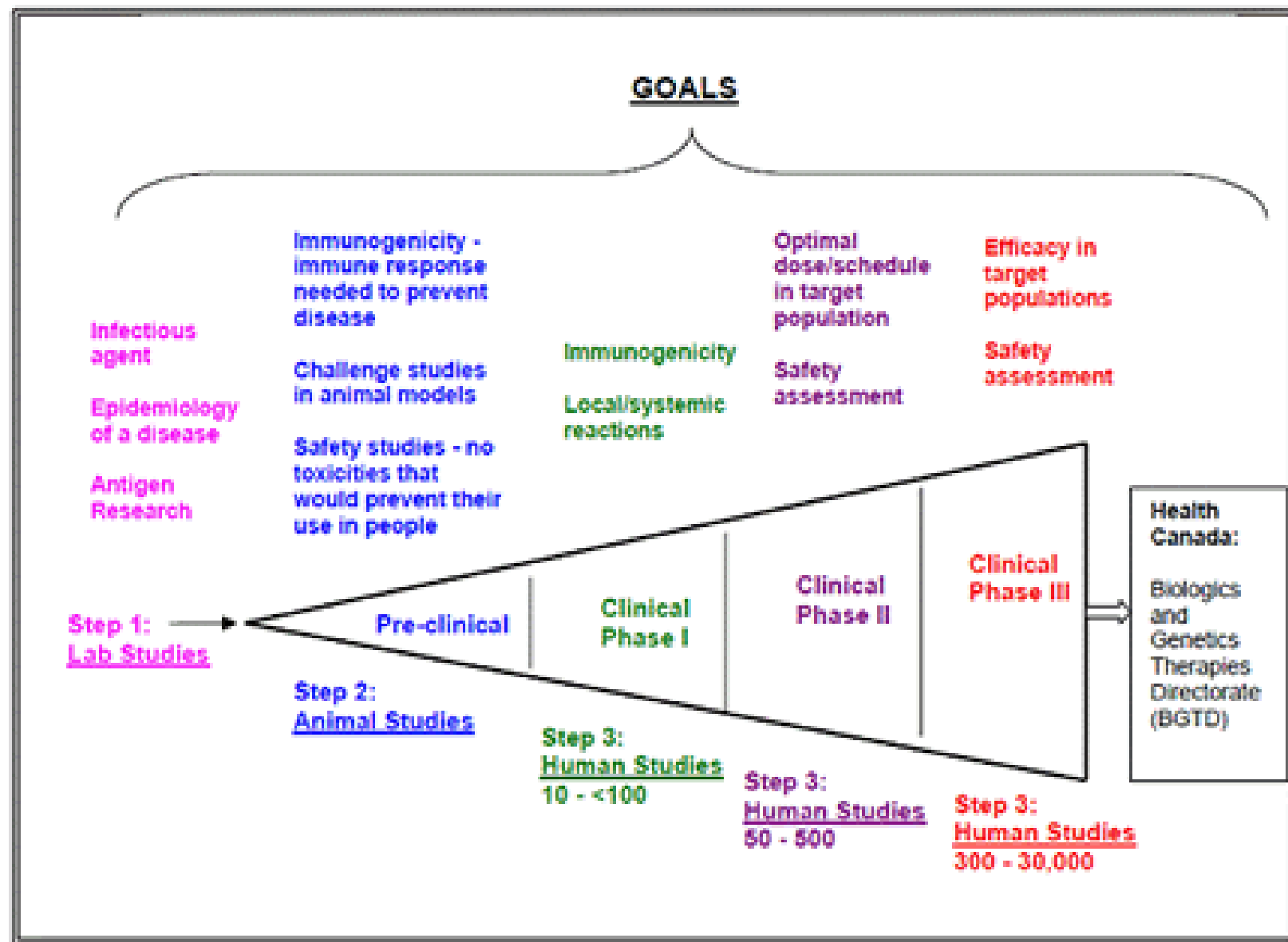
Clinical Phase III

Step 3: Human Studies  
10 - <100

Step 3: Human Studies  
50 - 500

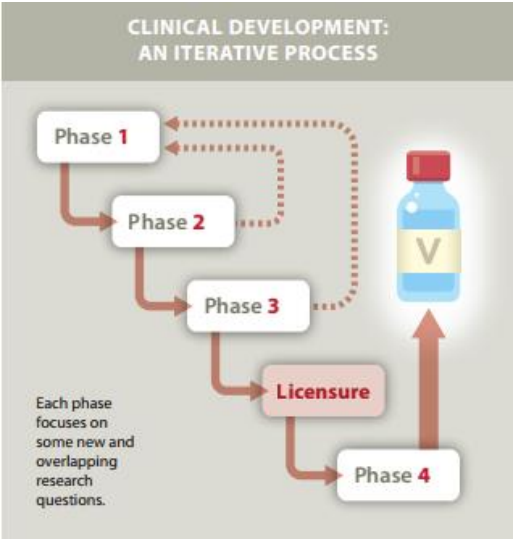
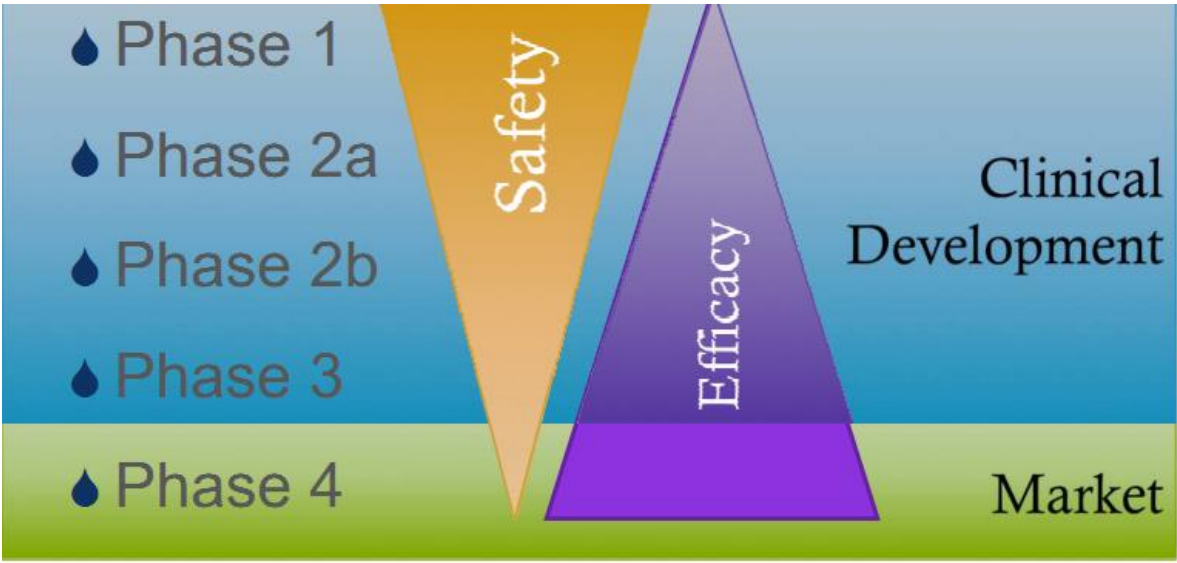
Step 3: Human Studies  
300 - 30,000

Health Canada:  
Biologics and Genetics Therapies Directorate (BGTD)



# Sicurezza vs efficacia

Studio dell'innocuità e dell'efficacia del prodotto *in vivo* **nell'uomo**



***« The impact of vaccination on the health of world's peoples is hard to exaggerate. With the exception of safe water, no other modality has had such a major effect on mortality reduction and population growth »***

**Susan and Stanley Plotkin**  
**A Short History of Vaccination**  
in *Vaccines* 1<sup>st</sup> edition 1988

