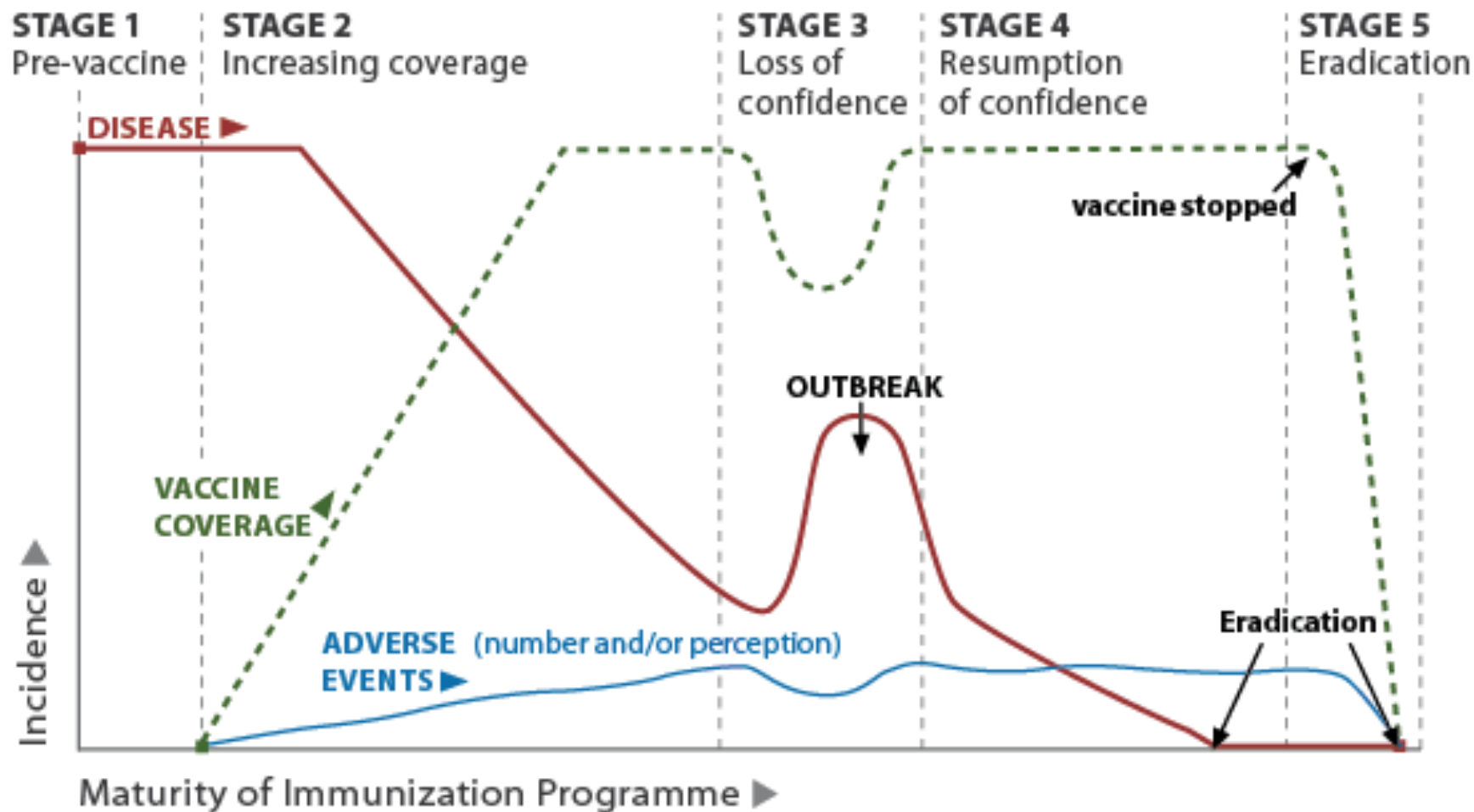


I VACCINI 3

MCV 2023





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

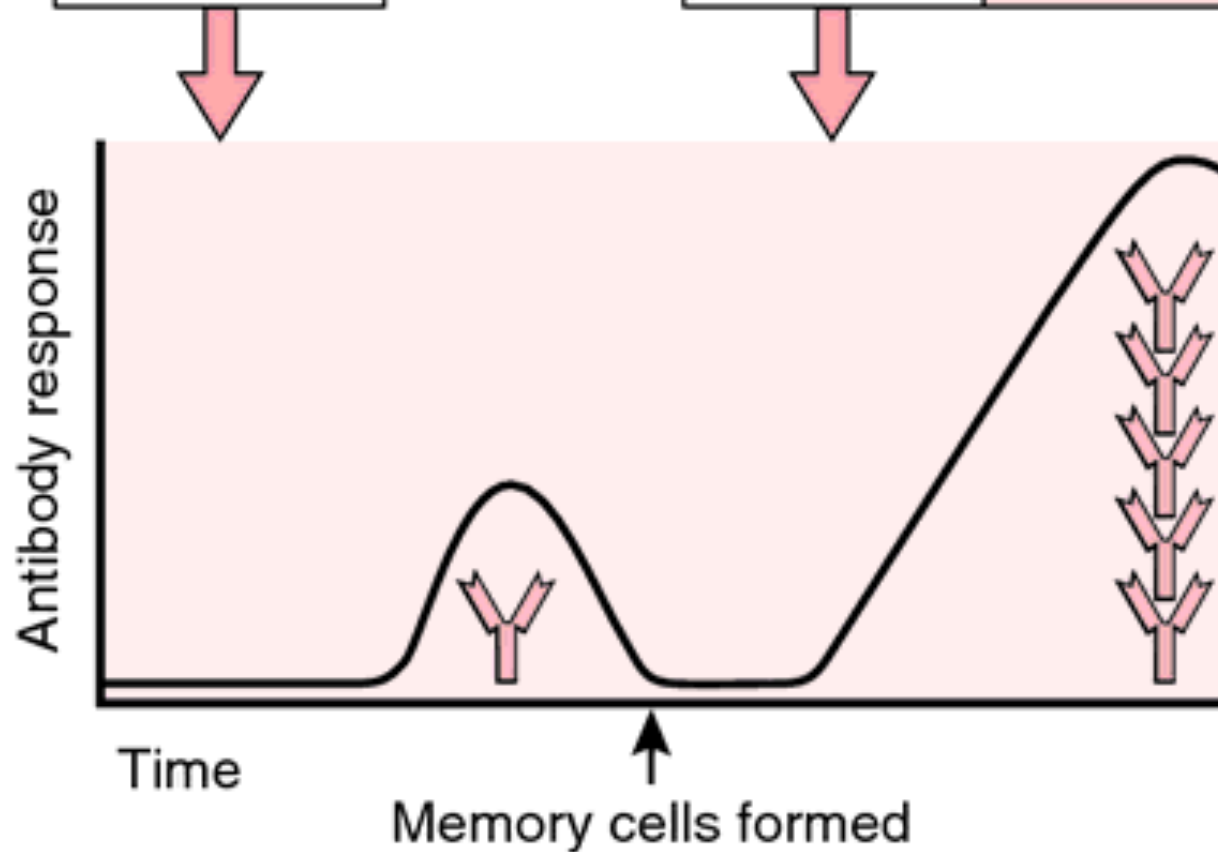
Risposta immunitaria

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

Sicurezza e stabilità

- Sicuro
- Molto stabili

Vaccination	Primary antibody response	Natural infection	Secondary antibody response
Toxoid 		Toxin 	Acquired immunity



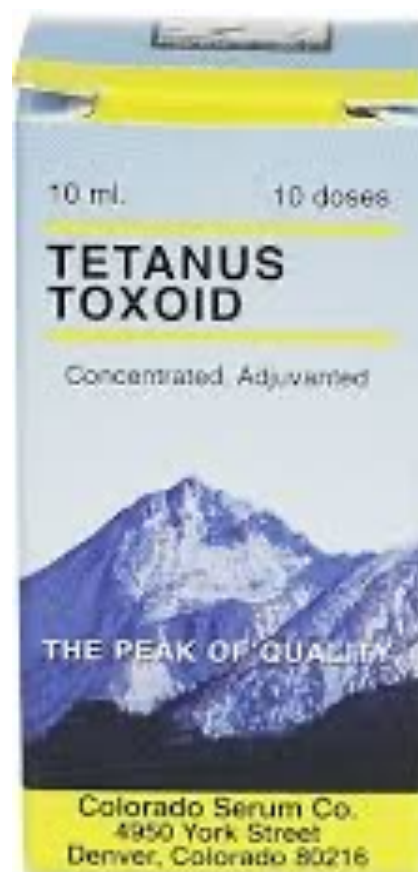


Figura 22.27 INTERNALIZZAZIONE DI UNA TOSSINA MONOMERICA A-B. (1) La tossina viene a contatto attraverso il dominio B con lo specifico recettore sulla membrana della cellula ospite. (2) Dopo l'internalizzazione, la tossina si trova all'interno dell'endosoma precoce dove avviene un processo di acidificazione a causa dell'attivazione delle pompe protoniche di membrana. (3) Questo processo causa la riduzione del legame di solfuro del complesso A-B e il rilascio nel citosol del dominio attivo A.

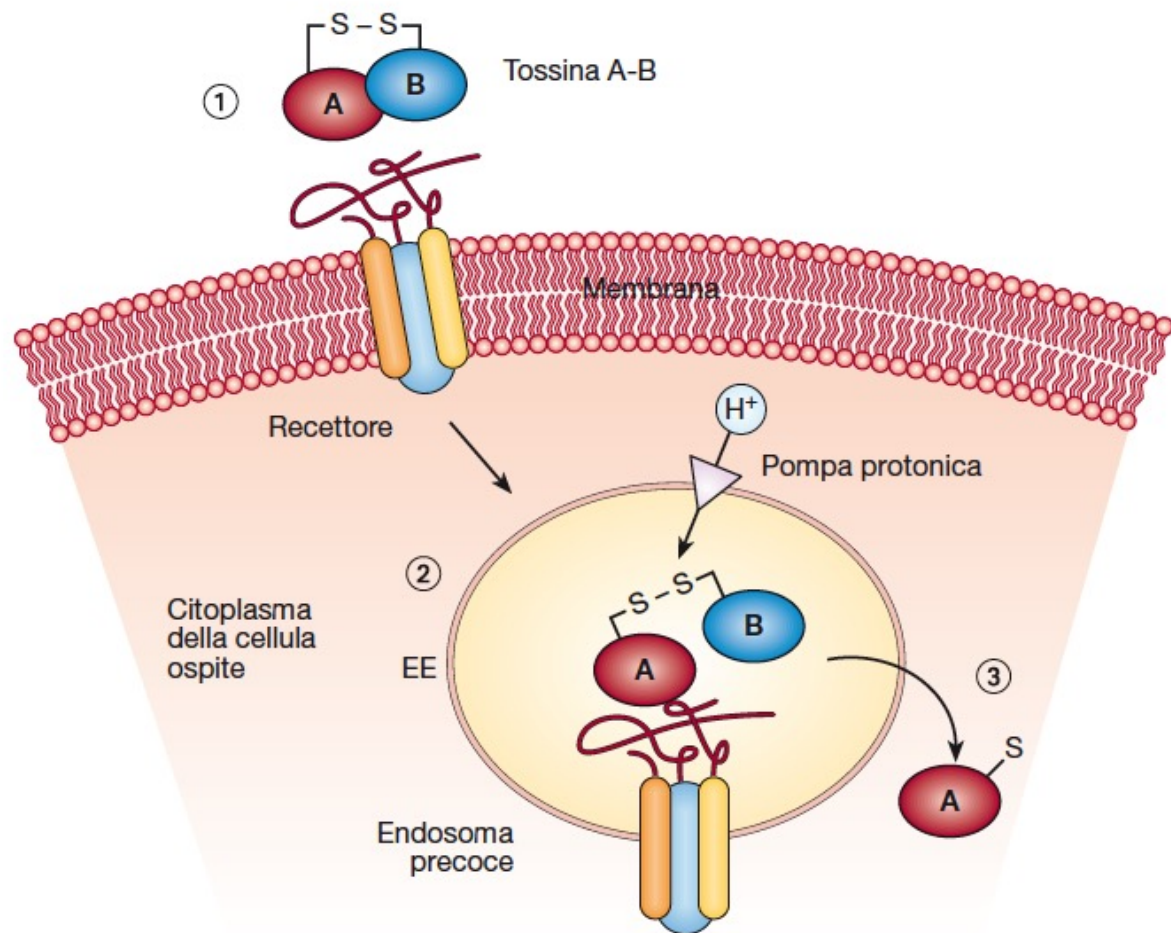


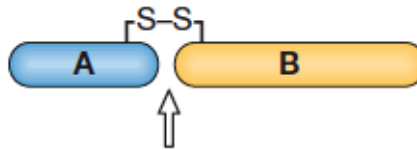
Tabella 22.5 ESEMPI DELLE ATTIVITÀ ENZIMATICHE DELLE TOSSINE A-B.

Funzione enzimatica	Tossina	Microrganismo	Effetto
ADP-ribosiltransferasi	CT(AB ₅)	<i>Vibrio cholerae</i>	Attivazione dell'adenilato ciclasi con susseguenti aumenti del livello di cAMP. Deregolazione nel flusso di ioni. Diarrea
	ExoA	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Blocco della sintesi proteica
	PTX	<i>Bordetella pertussis</i>	Attivazione dell'adenilato ciclasi con susseguenti aumenti del livello di cAMP. Alterazione delle vie di segnalazione cellulari
	DTX	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Blocco della sintesi proteica
	C2	<i>Clostridium botulinum</i>	Alterazioni strutturali e funzionali del citoscheletro
N-glicosilazione	STx1, STx2	<i>Escherichia coli</i>	Blocco della sintesi proteica
Glicosilazione	TcdA, TcdB	<i>Clostridium difficile</i>	Alterazione del citoscheletro
Deamidazione	CNF1, CNF2	<i>Escherichia coli</i>	Alterazione del citoscheletro
Attività proteasica	TeNT	<i>Clostridium tetani</i>	Inibizione del rilascio di neurotrasmettitori
	BoNT	<i>Clostridium botulinum</i>	Inibizione del rilascio di neurotrasmettitori
	LF	<i>Bacillus anthracis</i>	Rilascio di citochine pro-infiammatorie
Attività adenilato-ciclasica	CyA	<i>Bordetella pertussis</i>	Innalzamento dei livelli di cAMP. Alterazione della trasduzione del segnale
	EF	<i>Bacillus anthracis</i>	Innalzamento dei livelli di cAMP. Accumulo di fluidi

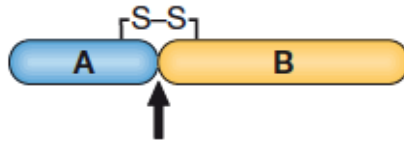
Citotossine A e B di
Clostridium difficile



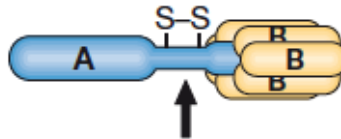
Neurotossina clostridica
(tossine tetanica e
botulinica)



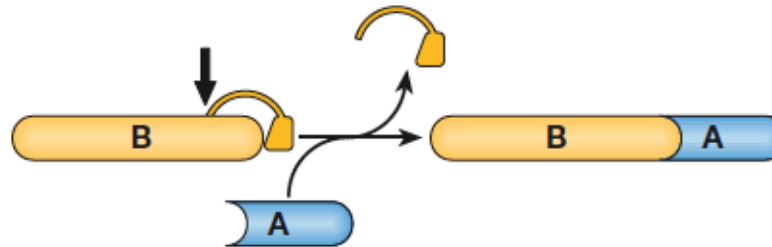
Tossina difterica



Tossina Shiga-like



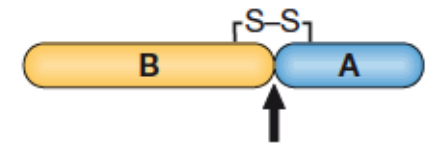
Tossina dell'antrace
Esotossina A
di *Pseudomonas*



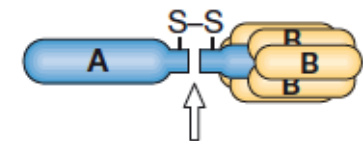
Tossine attivanti Rho
(es. CNF1)



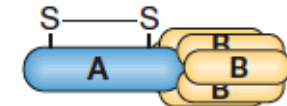
Esotossina A
di *Pseudomonas*



Tossina colerica
Tossina termolabile
di *E. coli*

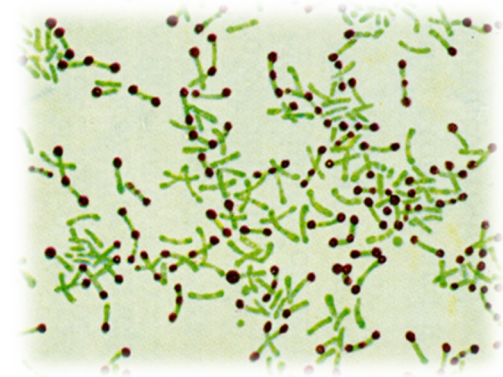


Tossina della pertosse



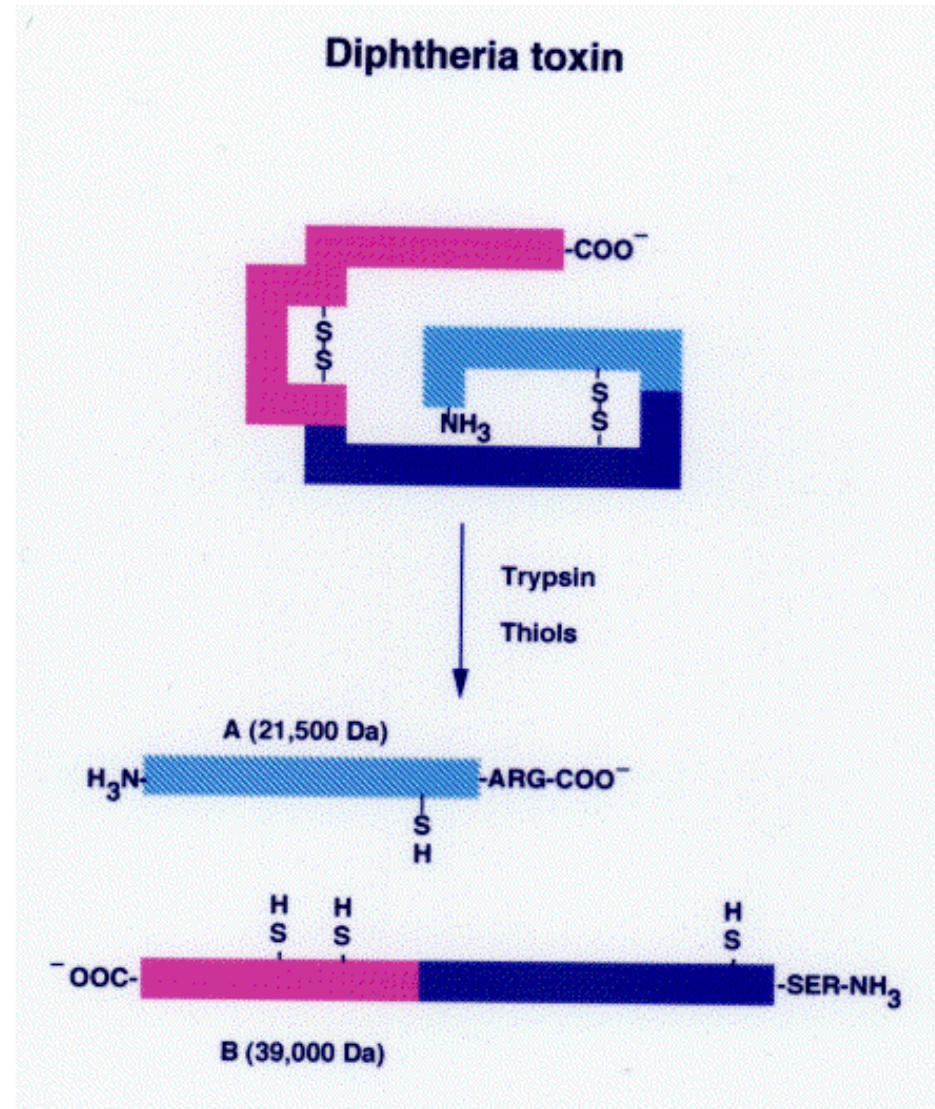
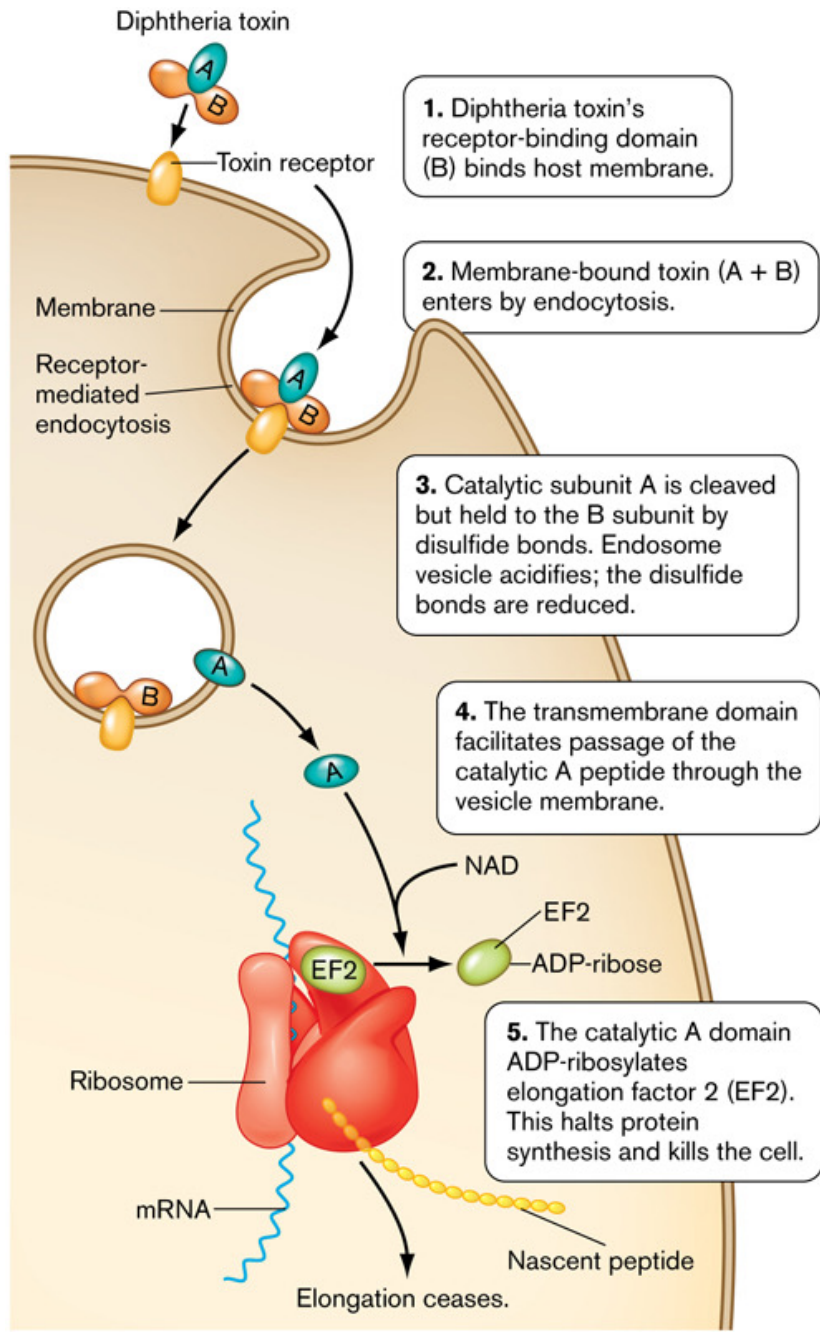
Difterite: generalità

- *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



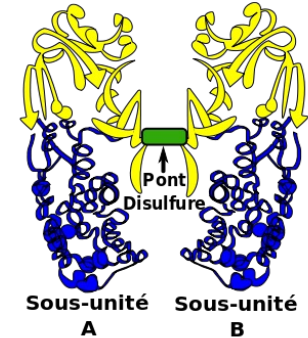
C. diphtheriae colorati con la tecnica di Albert
Inclusioni di polifosfati chiamati “volutina”

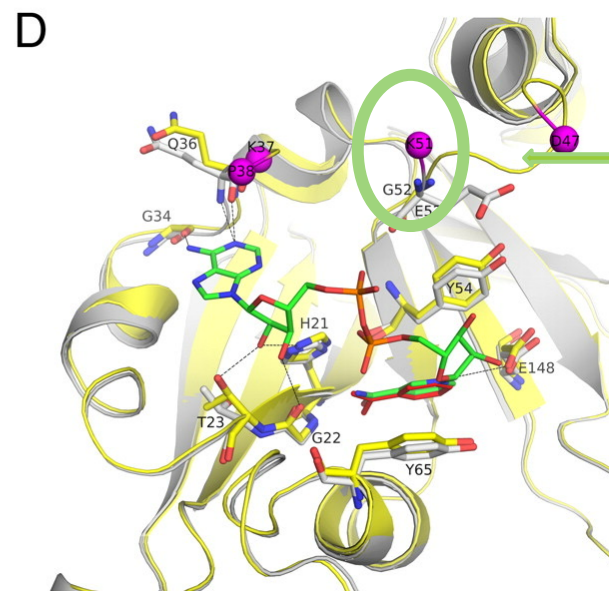
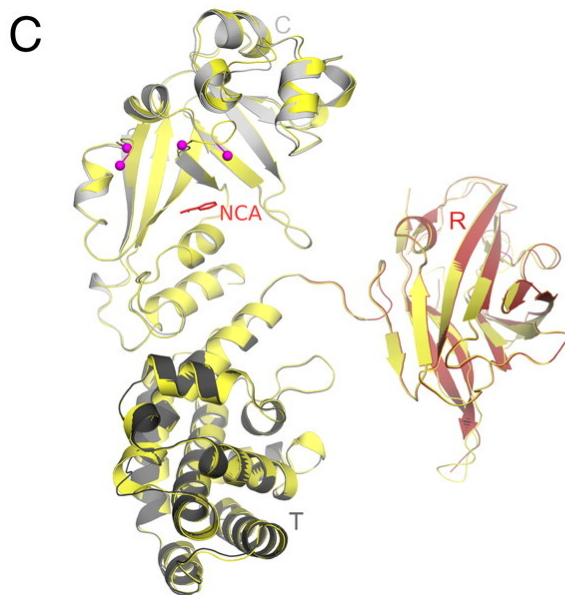
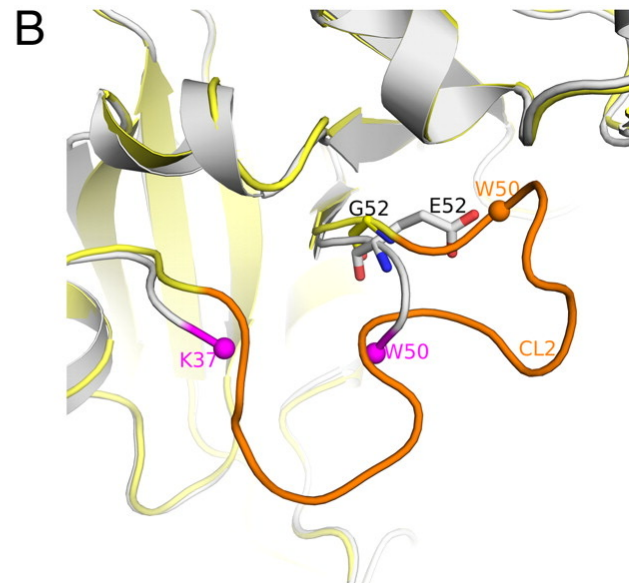
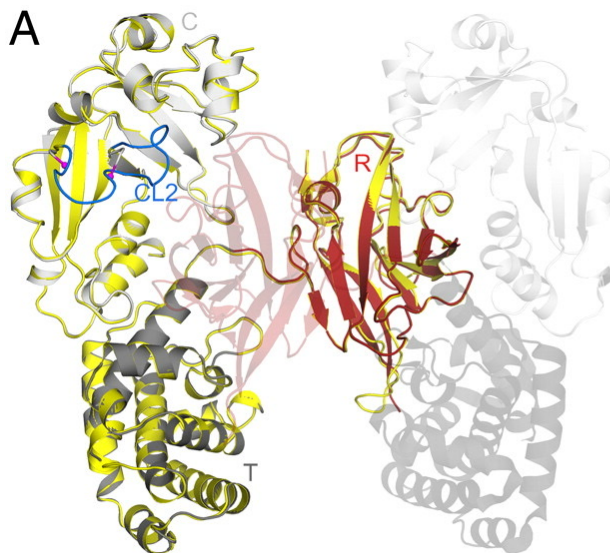




Difterite: il vaccino

- ✓ 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 (β 197) produce una tossina non tossica CRM197 (l'aa 52 cambia da glicina ad acido glutammico)
- ✓ → Produzione della tossina mutata ricombinante
- ✓ L'anatossina viene adsorbita sui sali d'alluminio

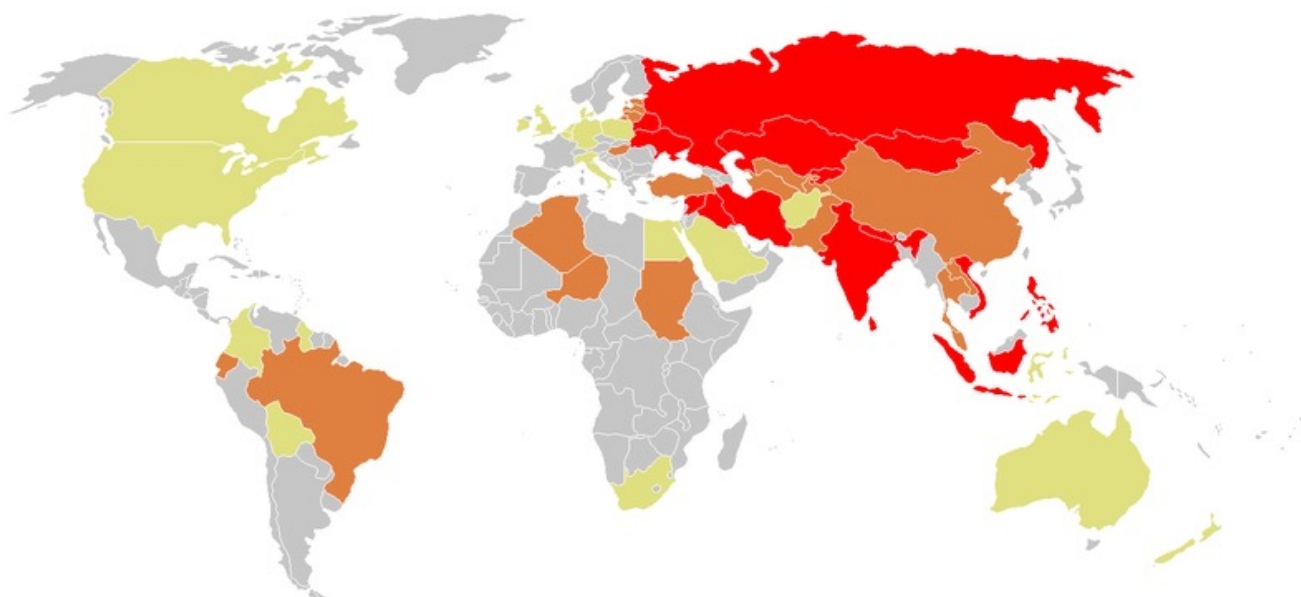




In CRM197
Ac.Glutammi
co al posto
della glicina
52

Difterite: epidemiologia

- Il tasso di sieroconversione dopo la serie di vaccinazioni è del circa 95-98%
- In Italia
 - la vaccinazione è obbligatoria dal 1939
 - attualmente la copertura vaccinale supera il 90%
 - ultimo caso riportato nel 1996
- Nel 2011 sono stati segnalati all'OMS un totale di 4.880 casi contro i 97.164 osservati nel 1980
- Importanza
 - mantenere la vaccinazione per evitare nuovi focolai
 - importanza di fare un richiamo ogni 10 anni (adulto)



Casi di difterite riportati tra il 1996 e il 2006

- Più di 100 casi
- ▲ Tra i 50 e i 99 casi
- ▲ Sotto i 49 casi
- ▲ 0 casi

Vaccine Antigens**Trade Names**

Diphtheria, tetanus toxoids: DT, Td	None
Diphtheria toxoid, tetanus toxoid, acellular pertussis: DTaP, Tdap	Tripedia*, Infanrix*, DAPTACEL*, Boostrix*, Adacel*
Diphtheria toxoid, tetanus toxoid, acellular pertussis, <i>haemophilus b</i> conjugate	TriHIBit*
Diphtheria toxoid, tetanus toxoid, acellular pertussis, hepatitis B, inactivated polio	Pediarix*
<i>Haemophilus b</i> conjugate, hepatitis B	Comvax*
Measles, mumps	M-M-Vax*
Measles, mumps, rubella	M-M-R* II
Measles, mumps, rubella, varicella	ProQuad*
Hepatitis A, hepatitis B	Twinrix*

Esistono due diverse formulazioni del vaccino contro la difterite: quella pediatrica (DTPa) che si somministra fino ai 6 anni, e quella da adulti (dTpa) che si somministra dopo il compimento dei 7 anni, nella quale le componenti inattivate per la difterite e la pertosse sono presenti in forma ridotta.

Hexavac -Infanrix-hexa

Vaccino esavalente

cosa comprende

- difterite
- epatite B
- infezioni da Hib
- pertosse
- poliomielite
- tetano



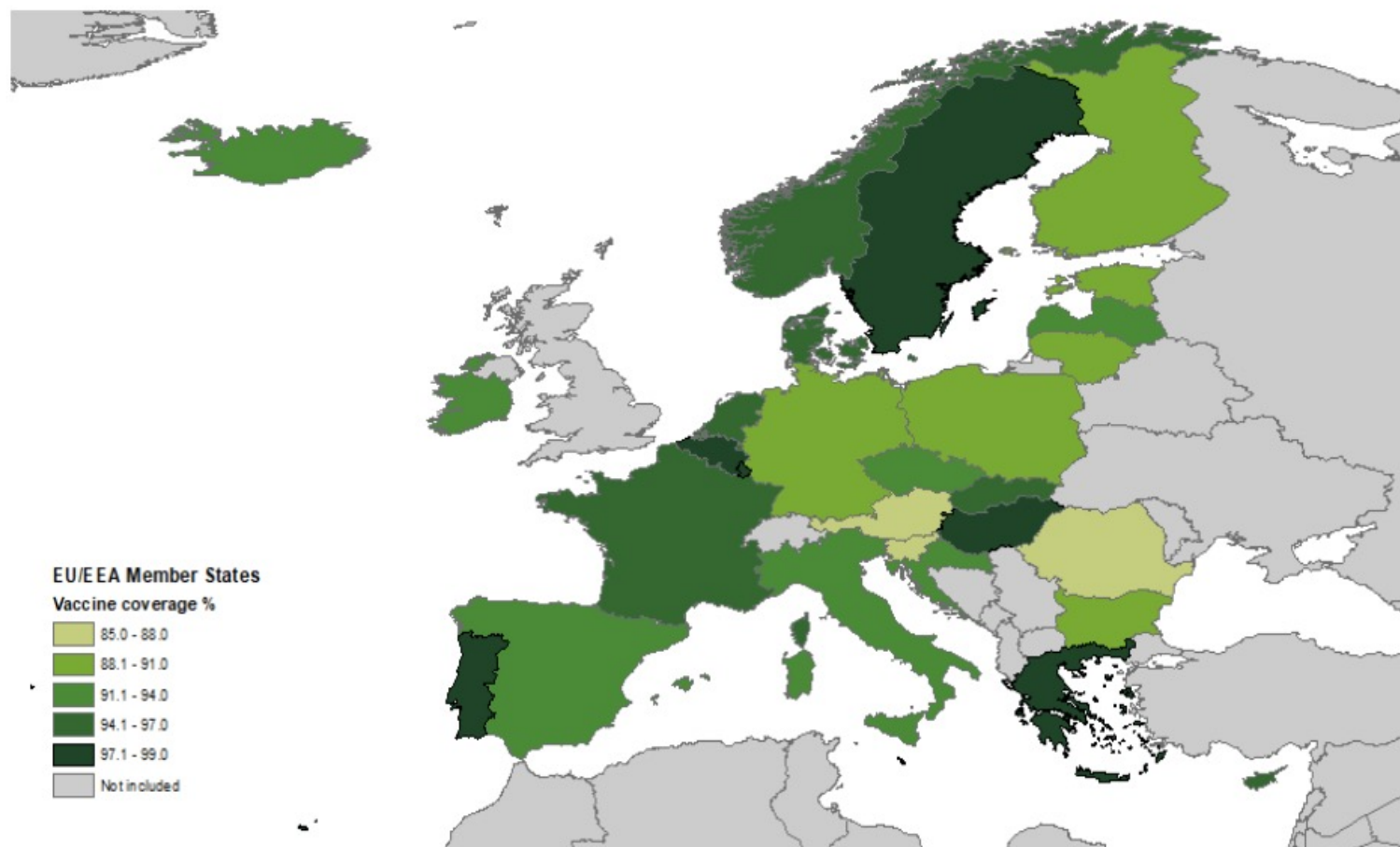
Hib: *Haemophilus influenzae* B

La Legge del 2017 ha introdotto le nuove indicazioni per quanto riguarda le vaccinazioni.

Le disposizioni prevedono dieci vaccinazioni obbligatorie per i minori di età compresa tra zero e sedici anni, inclusi i minori stranieri, che sono: anti-poliomielitica, anti-difterica, anti-tetanica, anti-epatite B, anti-pertosse, anti-*Haemophilus influenzae* tipo b, anti-morbillo, anti-rosolia, anti-parotite, anti-varicella.

il numero delle vaccinazioni obbligatorie si amplia rispetto agli anni precedenti includendo l'anti-pertosse, l'*anti-Haemophilus influenzae* tipo b, l'anti-morbillo, l'anti-rosolia, l'anti-parotite, l'anti-varicella, in ragione della loro elevata contagiosità.

Figure 4. DTP3 vaccine coverage in the EU/EEA 2021



Source: WHO Immunization Data portal [33]

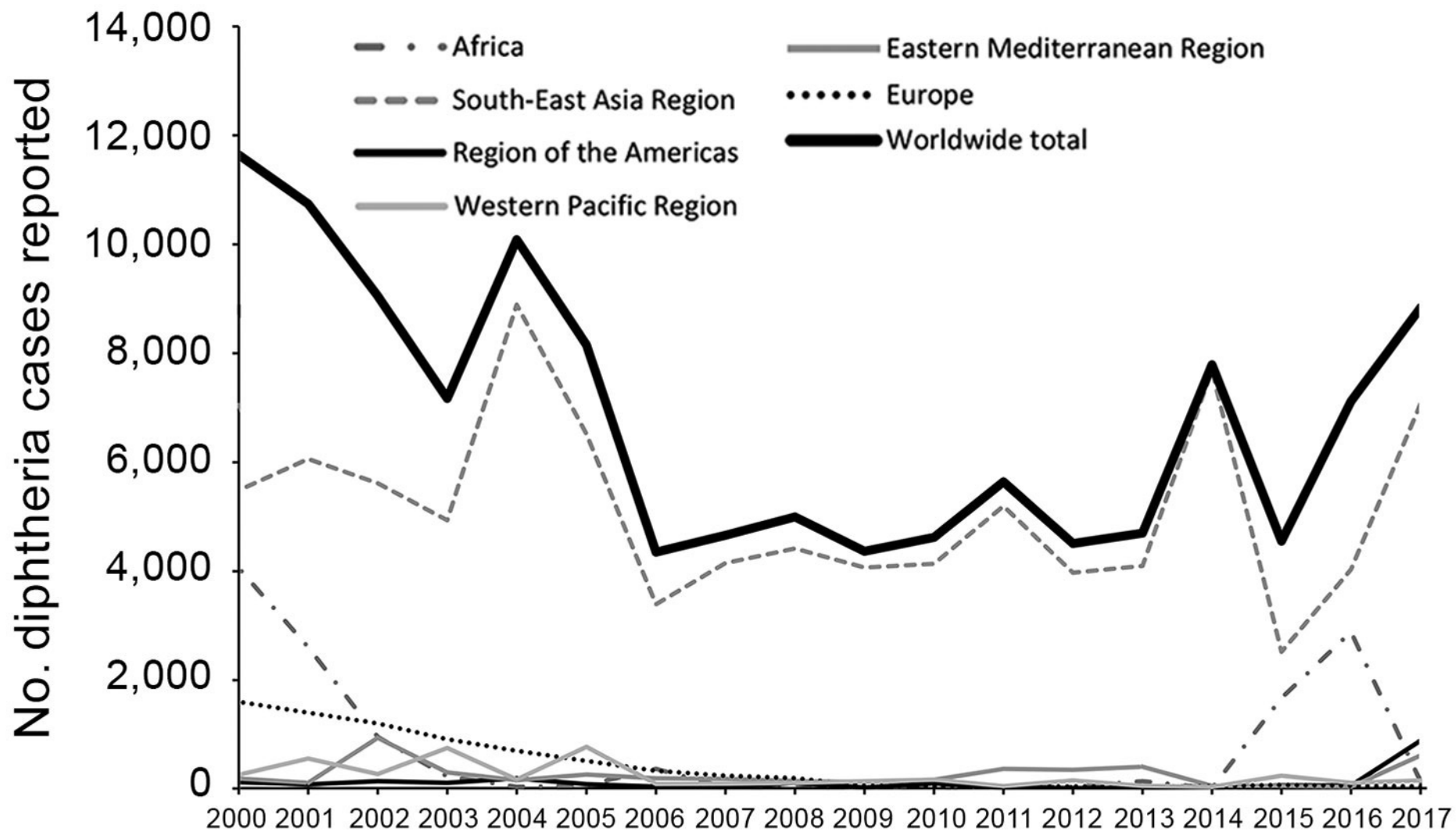
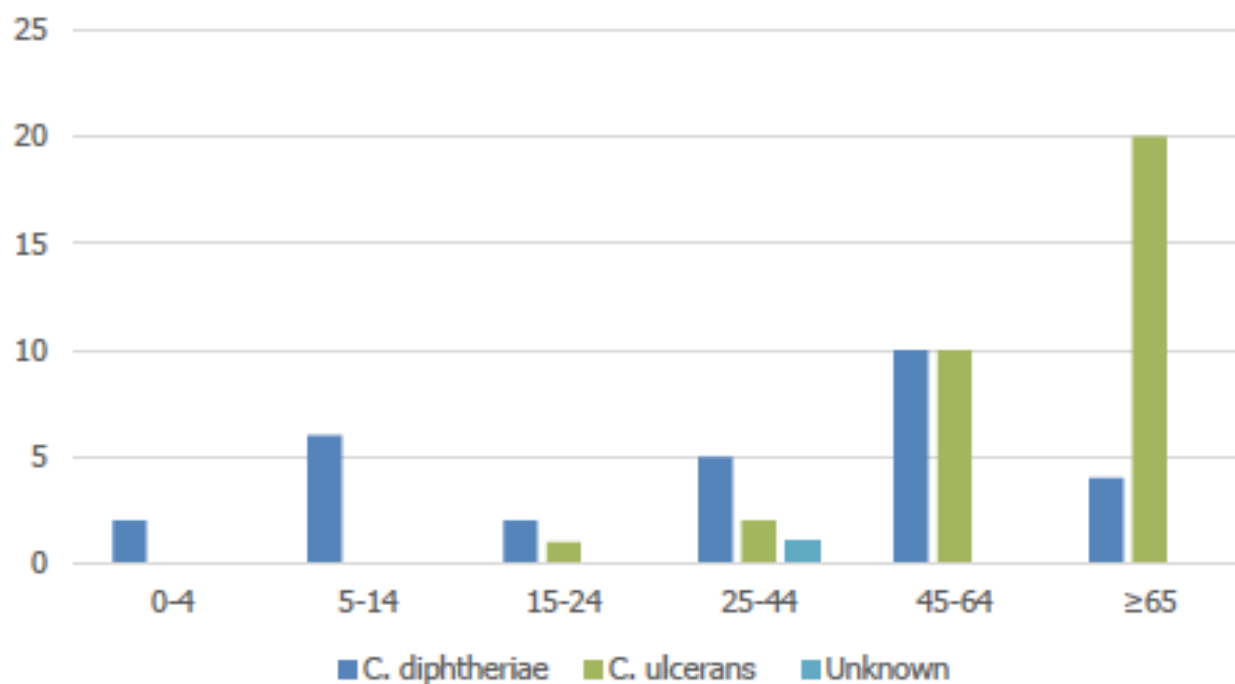
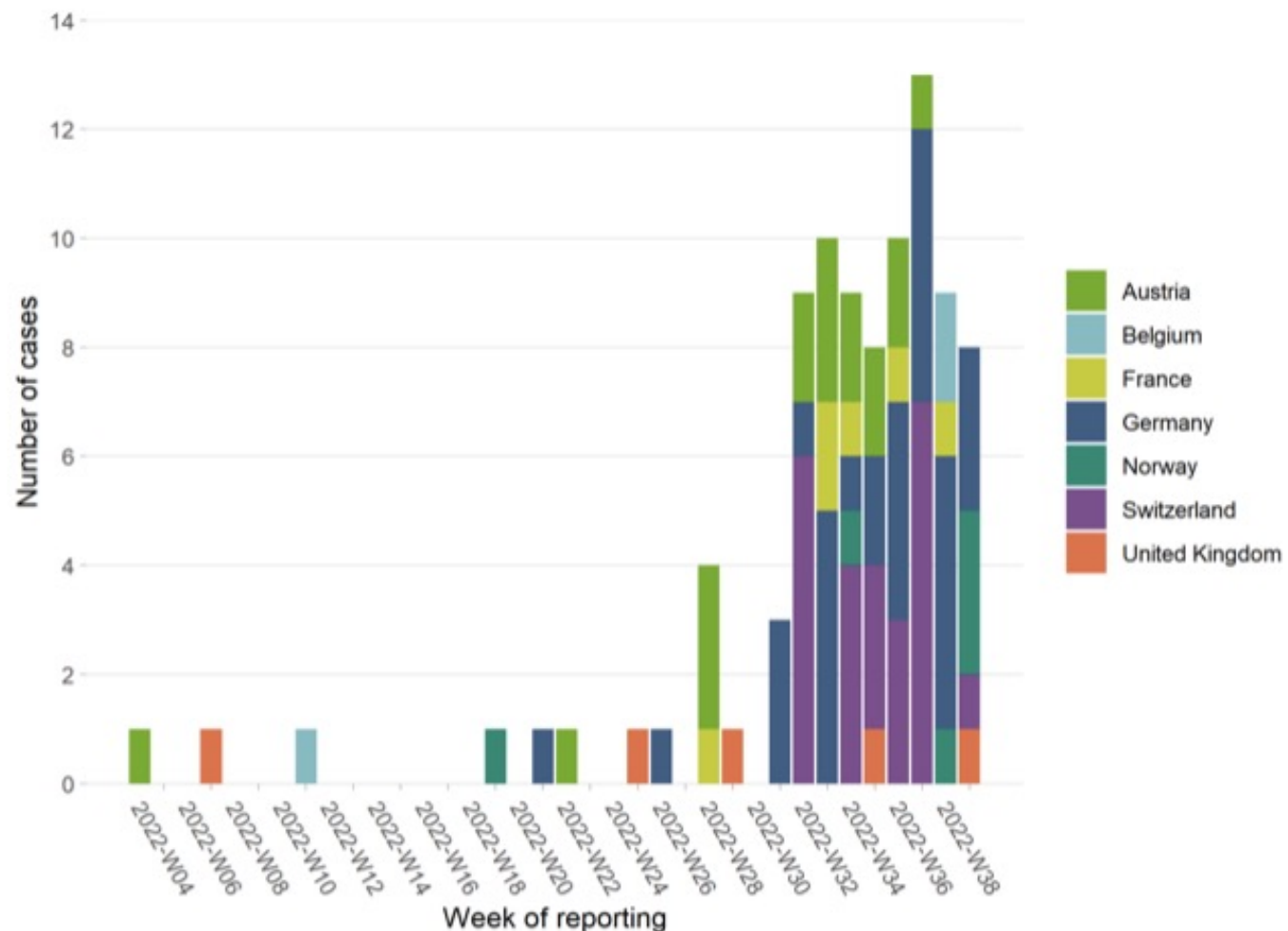


Figure 1. Age distribution of diphtheria cases by species, EU/EEA, 2018

Species:

Figure 1. Number of diphtheria cases among migrants per week, by country, and date of reporting in 2022.



Source: EpiPulse; direct communication with countries and official reports.

Note: Date of reporting for Switzerland is the date of publication of official or media reports.

Note 2: There is an inherent delay between the date of disease onset, the date of detection and the date of reporting, resulting in a reporting lag. This should be taken into consideration when interpreting this figure.

Note 3: Figure includes cases of respiratory diphtheria from Austria (4), Germany (1) and Switzerland (10).

Vaccini a subunità (proteine)

Generalità

- Non contengono componenti viventi, come i vaccini inattivati
- Contengono una o più parti antigeniche
- Contengono solo le parti antigeniche del patogeno necessarie allo sviluppo della risposta immunitaria
- Costoso (studio della proprietà antigenica dei componenti e della giusta combinazione)

Risposta immunitaria

- Risposta immunitaria appropriata
- Non vengono sempre prodotte le cellule della memoria
- Sono necessarie diverse iniezioni
- Adjuvante quasi indispensabile

Sicurezza e stabilità

- Non inducono la malattia
- Sicuri e stabili

- ➡ ***Proteine***
- ➡ ***Polisaccaridi***
- ➡ ***Coniugati***
- ➡ ***Acidi nucleici***

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)*



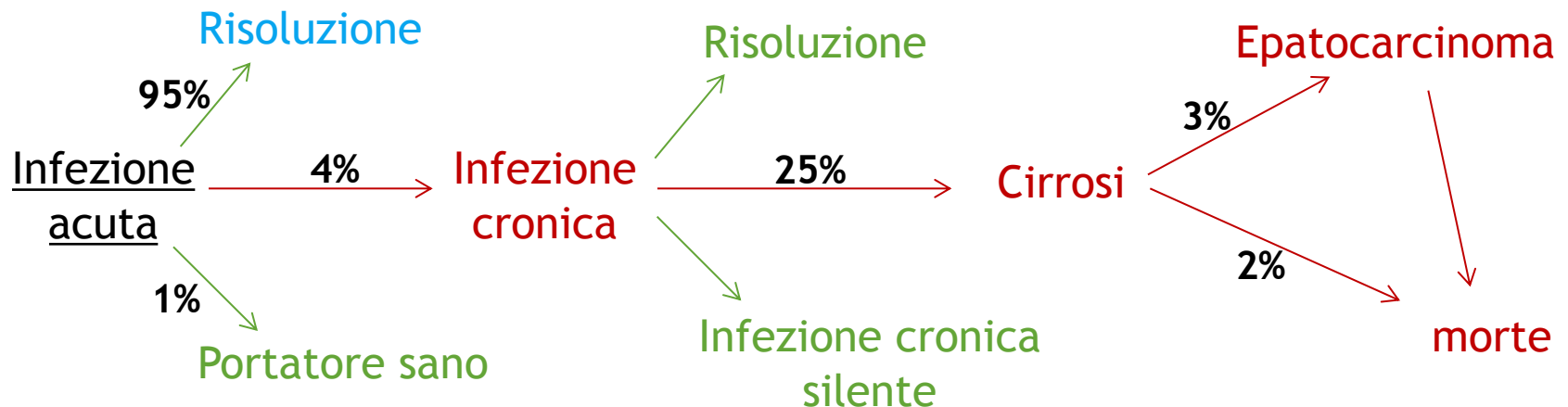
Disease	Pathogen	Symptoms	Incubation period	Method of transmission	Diagnostic test
Hepatitis A	HAV, Picornaviridae	Fever, headache, malaise, jaundice	2-6 weeks	Ingestion	IgM antibodies
Hepatitis B	HBV, Hepadnaviri- dae	Severe liver dam- age, chronic dis- ease occurs	3-26 weeks	Parenteral, sexual contact	IgM antibodies
Hepatitis C	HCV, Flaviviridae	Same as HBV, more chronic	2-33 weeks	Parenteral	PCR of viral RNA
Hepatitis D	HDV, Deltaviridae	Severe liver dam- age, high mortality rate	6-26 weeks	Parenteral, when co- infected with HBV	IgM antibodies
Hepatitis E	HEV, Caliciviridae	Pregnant women may be at high risk and show high mortality, not chronic disease	2-6 weeks	Ingestion	IgM antibodies, PCR of viral RNA

Type of Hepatitis

	A	B	C	D	E
Source of virus	feces	blood/ blood-derived body fluids	blood/ blood-derived body fluids	blood/ blood-derived body fluids	feces
Route of transmission	fecal-oral	percutaneous permucosal	percutaneous permucosal	percutaneous permucosal	fecal-oral
Chronic infection	no	yes	yes	yes	no
Prevention	pre/post- exposure immunization	pre/post- exposure immunization	blood donor screening; risk behavior modification	pre/post- exposure immunization; risk behavior modification	ensure safe drinking water

Epatite B: la malattia

- >2 miliardi di individui presentano marker di infezione (pregressa o in corso)
- 4 milioni di casi di malattia acuta all'anno
- 300-400 milioni di individui con la forma cronica della malattia
- 1 milione di decessi all'anno
- HBV è la causa del 60-80% di tutti i casi di epatocarcinoma primario
- HBV è il secondo agente cancerogeno dopo il tabacco
- Probabilità di cronicizzazione molto più alta nei neonati (fino a 90%)



Epatite B: il virus

- *Hepadnavirus*
- Virus a DNA a doppio filamento (se ne conoscono 6 genotipi A-F)
- 4 ORFs:
 - proteine di envelope HBsAg (S,M,L)
 - polimerasi virale
 - proteina X
 - proteina del capsid

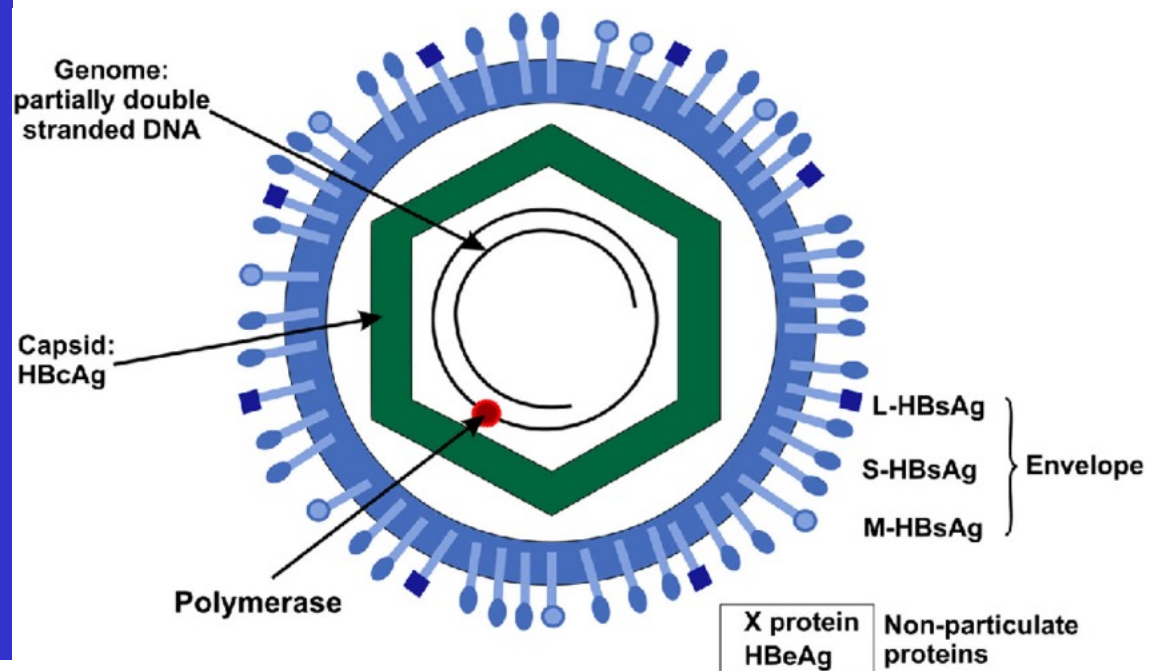
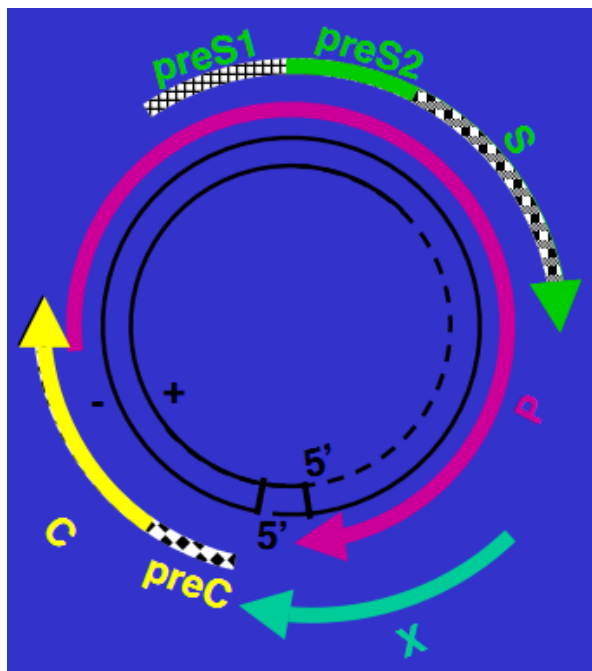
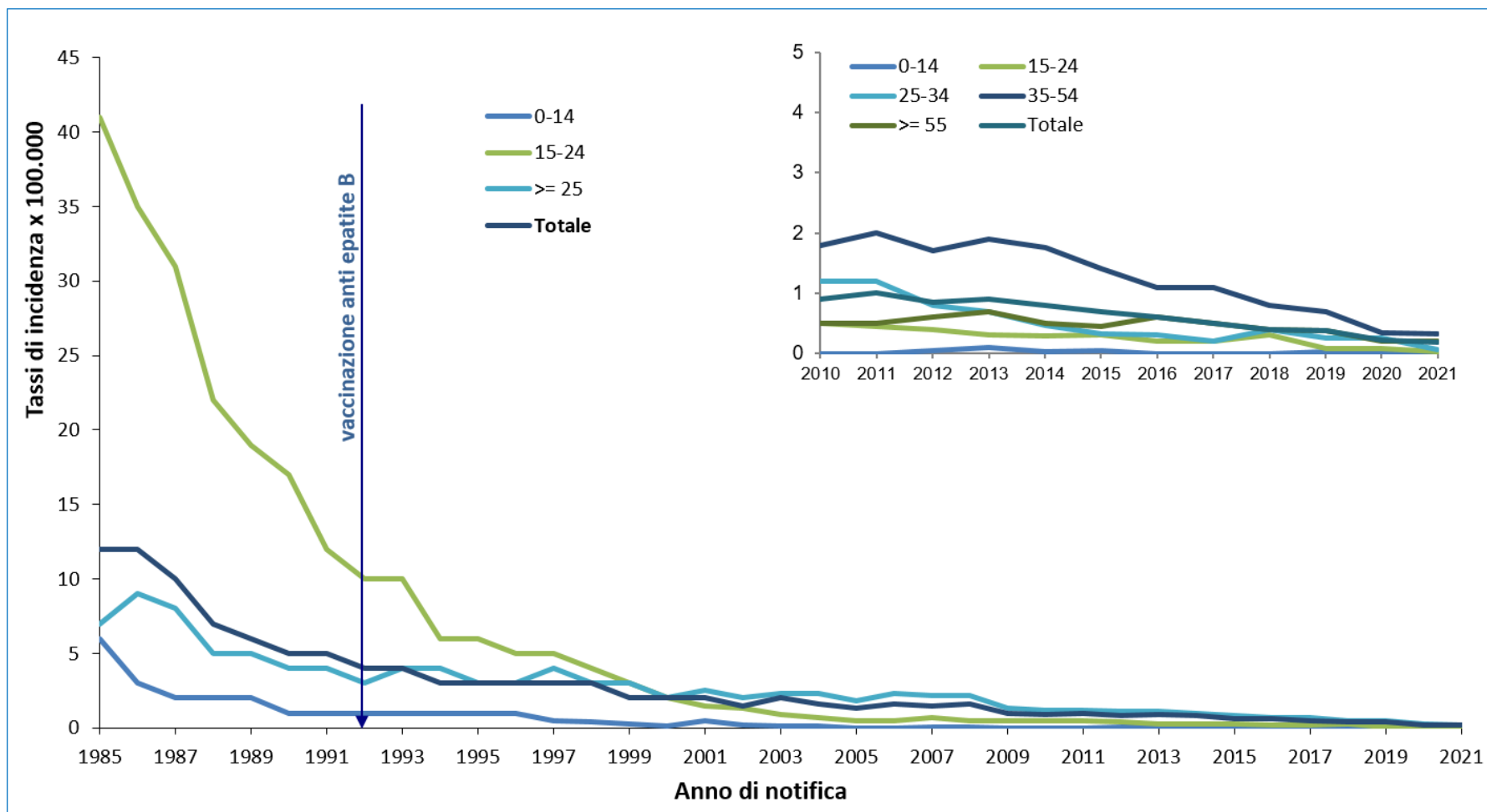


Table 2. Number and rate per 100 000 population of reported hepatitis B cases in the EU/EEA by country and year, 2017–2021

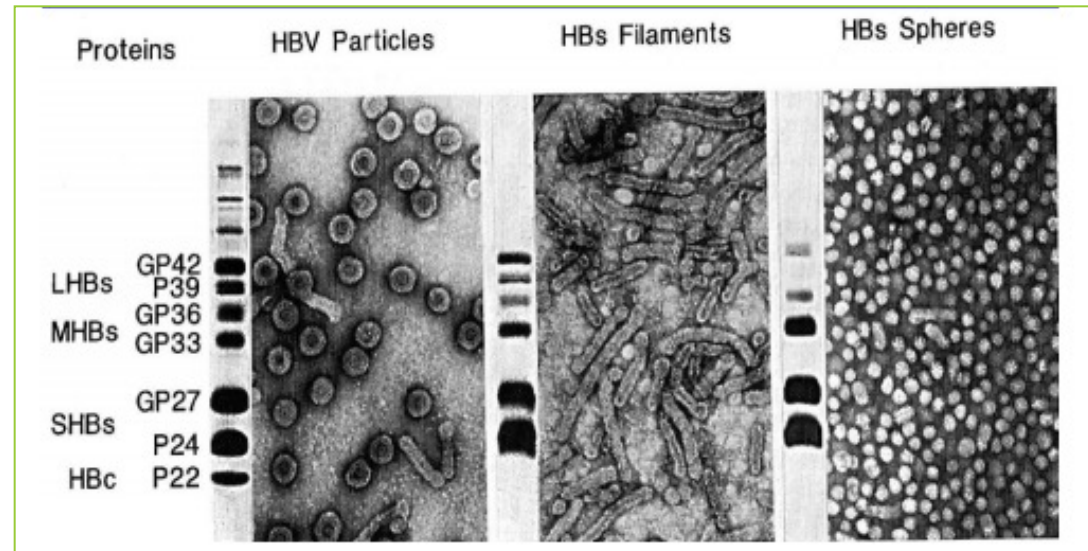
Country	2017		2018		2019		2020		2021							
	All		All		All		All		All		Acute ⁱ		Chronic ⁱ		Unknown ⁱ	
	Cases	Rate	Cases	Rate	Cases	Rate	Cases	Rate	Cases	Rate	Cases	Rate	Cases	Rate	Cases	Rate
Austria	1 418	16.2	1 288	14.6	1 191	13.4	933	10.5	909	10.2	31	0.3	324	3.6	554	6.2
Belgium ⁱⁱ	1 634	NR	1 982	NR	2 021	NR	1 423	NR	1 029	NR	ND	NR	ND	NR	ND	NR
Bulgaria	249	3.5	215	3.0	198	2.8	112	1.6	83	1.2	ND	NR	ND	NR	ND	NR
Croatia	97	2.3	98	2.4	93	2.3	22	0.5	23	0.6	0	0.0	5	0.1	18	0.4
Cyprus	35	4.1	83	9.6	108	12.3	29	3.3	14	1.6	1	0.1	13	1.5	ND	NR
Czechia	303	2.9	323	3.0	317	3.0	169	1.6	144	1.3	17	0.2	127	1.2	ND	NR
Denmark	262	4.6	164	2.8	170	2.9	152	2.6	124	2.1	6	0.1	118	2.0	0	0.0
Estonia	14	1.1	19	1.4	18	1.4	23	1.7	23	1.7	3	0.2	20	1.5	ND	NR
Finland	265	4.8	239	4.3	238	4.3	166	3.0	236	4.3	40	0.7	196	3.5	ND	NR
France ⁱⁱⁱ	ND	NR	ND	NR	ND	NR	ND	NR	ND	NR	82	0.1	ND	NR	ND	NR
Germany	3 594	4.4	4 524	5.5	8 935	10.8	6 807	8.2	8 262	9.9	481	0.6	3 720	4.5	4 061	4.9
Greece ⁱⁱ	ND	NR	ND	NR	ND	NR	ND	NR	165	1.5	10	0.1	155	1.5	ND	NR
Hungary ⁱⁱ	ND	NR	ND	NR	ND	NR	ND	NR	ND	NR	14	0.1	ND	NR	ND	NR
Iceland	68	20.1	44	12.6	49	13.7	33	9.1	31	8.4	0	0.0	30	8.1	1	0.3
Ireland	527	11.0	499	10.3	513	10.5	333	6.7	426	8.5	11	0.2	353	7.1	62	1.2
Italy	437	0.7	379	0.6	341	0.6	172	0.3	144	0.2	ND	NR	ND	NR	144	0.2
Latvia	348	17.8	328	17.0	295	15.4	222	11.6	145	7.7	12	0.6	133	7.0	ND	NR
Liechtenstein	ND	NR	ND	NR	ND	NR	ND	NR	5	12.8	ND	NR	2	5.1	3	7.7
Lithuania ⁱⁱ	ND	NR	ND	NR	ND	NR	25	0.9	27	1.0	9	0.3	18	0.6	ND	NR
Luxembourg	60	10.2	47	7.8	52	8.5	518	82.7	283	44.6	ND	NR	0	0.0	283	44.6
Malta	25	5.4	25	5.3	23	4.7	39	7.6	45	8.7	0	0.0	0	0.0	45	8.7
Netherlands	1 224	7.2	1 141	6.6	1 169	6.8	801	4.6	816	4.7	71	0.4	734	4.2	11	0.1
Norway	478	9.1	365	6.9	393	7.4	225	4.2	257	4.8	4	0.1	253	4.7	ND	NR
Poland	3 363	8.9	3 196	8.4	2 854	7.5	992	2.6	1 547	4.1	10	0.0	0	0.0	1 537	4.1
Portugal	181	1.8	189	1.8	201	2.0	128	1.2	125	1.2	15	0.1	53	0.5	57	0.6
Romania	133	0.7	119	0.6	103	0.5	21	0.1	18	0.1	18	0.1	0	0.0	ND	NR
Slovakia	141	2.6	131	2.4	141	2.6	89	1.6	77	1.4	10	0.2	67	1.2	ND	NR
Slovenia	77	3.7	78	3.8	60	2.9	94	4.5	128	6.1	6	0.3	32	1.5	90	4.3
Spain ⁱⁱ	ND	NR	ND	NR	ND	NR	ND	NR	ND	NR	261	0.6	ND	NR	ND	NR
Sweden	1 239	12.4	1 130	11.2	1 098	10.7	804	7.8	744	7.2	30	0.3	645	6.2	69	0.7
United Kingdom	10 390	15.8	7 778	11.7	9 254	13.9	ND	NR	ND	NR	ND	NR	ND	NR	ND	NR
Total EU/EEA	26 562	6.8	24 384	6.1	29 835	7.5	14 332	4.2	15 830	4.7	1 142	0.3	6 998	2.8	6 935	2.8

Data presented by date of diagnosis. ND: no data reported. NR: no rate calculated. i: Includes cases reported by countries as acute, chronic or unknown using the differentiation criteria. ii: Data from Belgium came from a sentinel system with undefined coverage, so population rates cannot be calculated. iii: 'All cases' not displayed for countries that only reported acute cases.



Epatite B: il vaccino (1)

Particelle di HBV (Hepatitis B Virus) e particelle sub virali osservate nel siero di pazienti infetti



- Blumberg B. 1965: Il primo vaccino contro l'epatite B
Particelle sub virali (HBsAg ovvero antigene Australia) purificate dal sieri di portatori cronici dell'HBV, e trattati con diversi agenti chimici/fisici per l'inattivazione di potenziali residui del virus



- Clonaggio e sequenziamento del genoma di HBV nel 1976
(Galibert *et al.*, Nature, 1979)
- Localizzazione sul genoma virale dei geni codificanti per HBsAg

Epatite B: il vaccino (2)

Obiettivo: Ottenere HBsAg VLPs simili a quelle presenti nel siero dei malati

Difficoltà:
quantità prodotta di antigene
assemblaggio delle proteine di superficie in VLPs
linee cellulari adatte per l'uso umano
glicosilazione delle proteine (lievito/cellule animali)

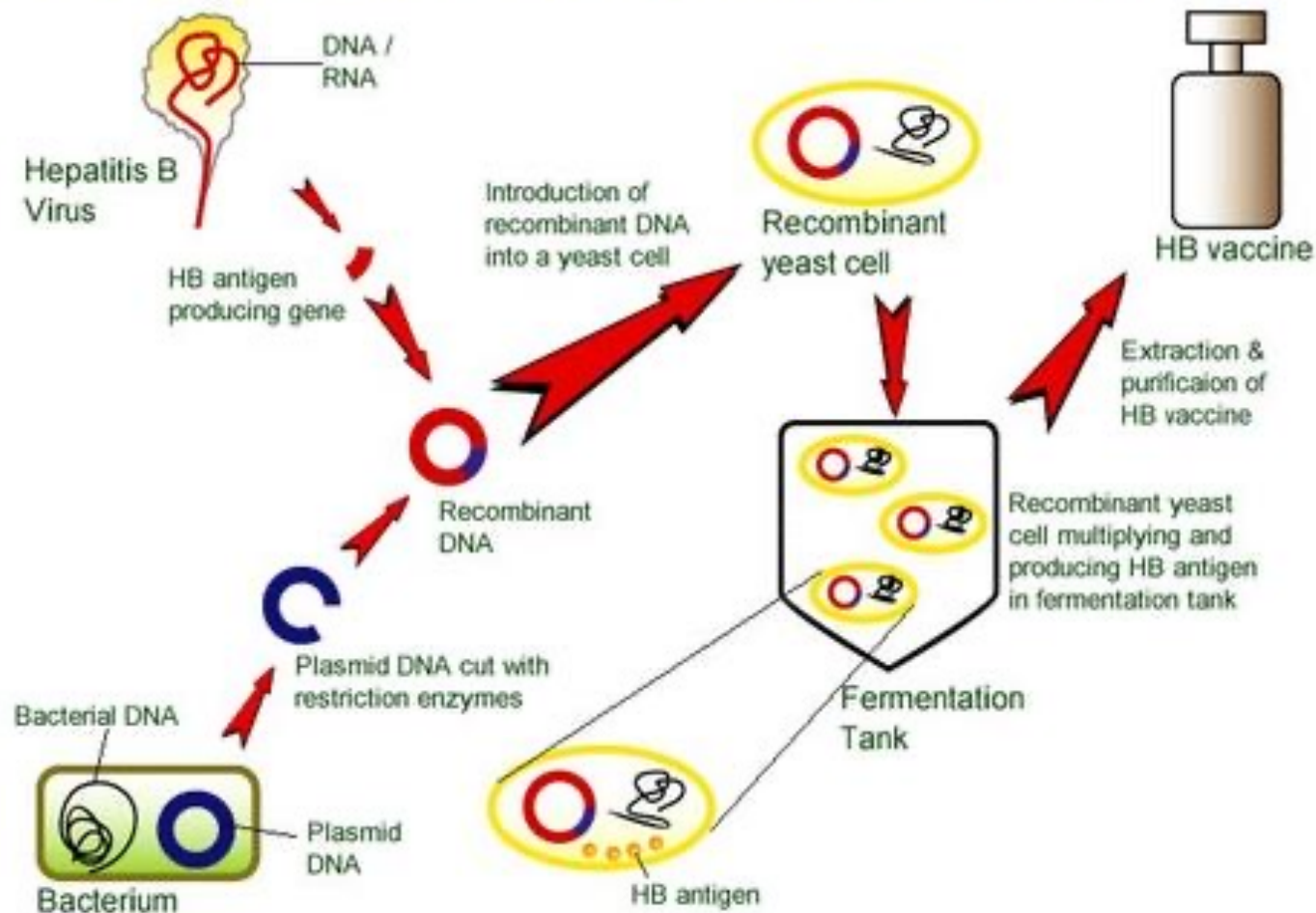
Lievito: *Saccharomyces cerevisiae* - Valenzuela P. 1982

Cellule animali: CHO (cellule ovariche di hamster cinesi) - Tiollais P. 1985

Sali di alluminio aggiunti come adiuvante
(permettono un rilascio più lento e più continuo)

 **Primo vaccino prodotto grazie alla tecnologia del DNA ricombinante**

Production of Recombinant HB Vaccine



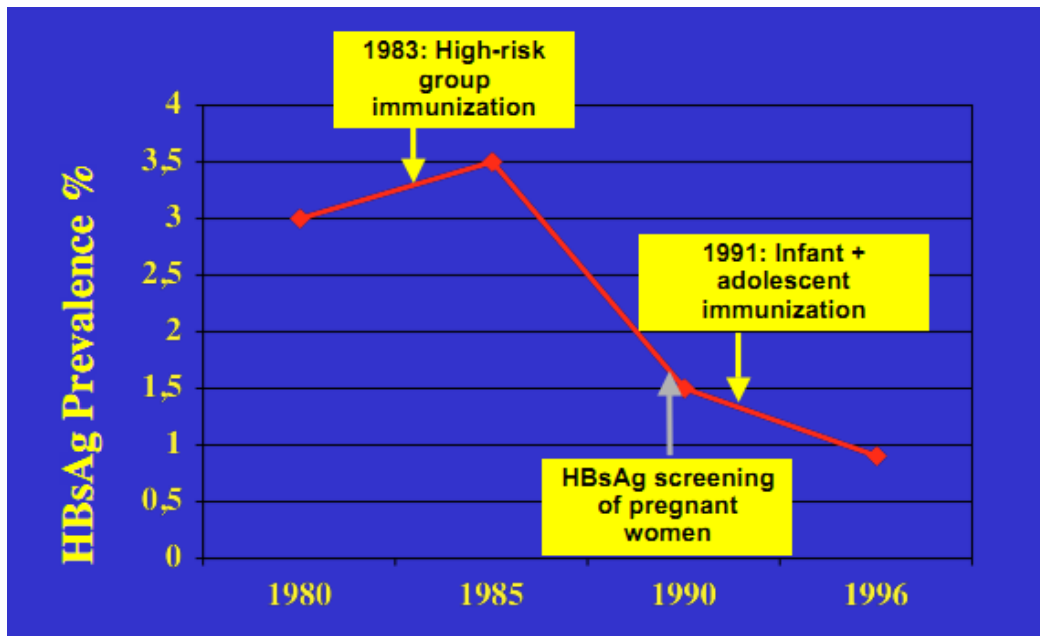
Epatite B: bersaglio della vaccinazione

- Individui ad alto rischio di infezione
- Neonati da madre HBV positivo
- Tutti bambini

Dal 2005 168 paesi hanno introdotto questo vaccino nel loro programma di vaccinazione

In Italia: consigliata nel 1983 e obbligatorio dal 1991

Impatto della
vaccinazione anti-HBV in
Italia negli individui di
età compresa tra 15 e
24 anni





Vaccine	Dose and Route	# Doses	Schedule
Hepatitis A Vaccines			
<i>Havrix</i>	1440 EL.U. (1.0 ml IM)	2	0, 6-12 months
<i>Vaqta</i>	50 U (1.0 ml IM)	2	0, 6-12 months
Combined Hepatitis A and B Vaccines			
<i>Twinrix</i>	<i>Havrix</i> 720 EL.U. plus <i>Engerix</i> 20 µg (1.0 ml IM)	3	0, 1, 6 months

Month

0

1

2

3

4

5

6

Hepplisav-B

1

2

Engerix-B

1

2

3

Recombivax-HB

1

2

3

PreHevbrio

1

2

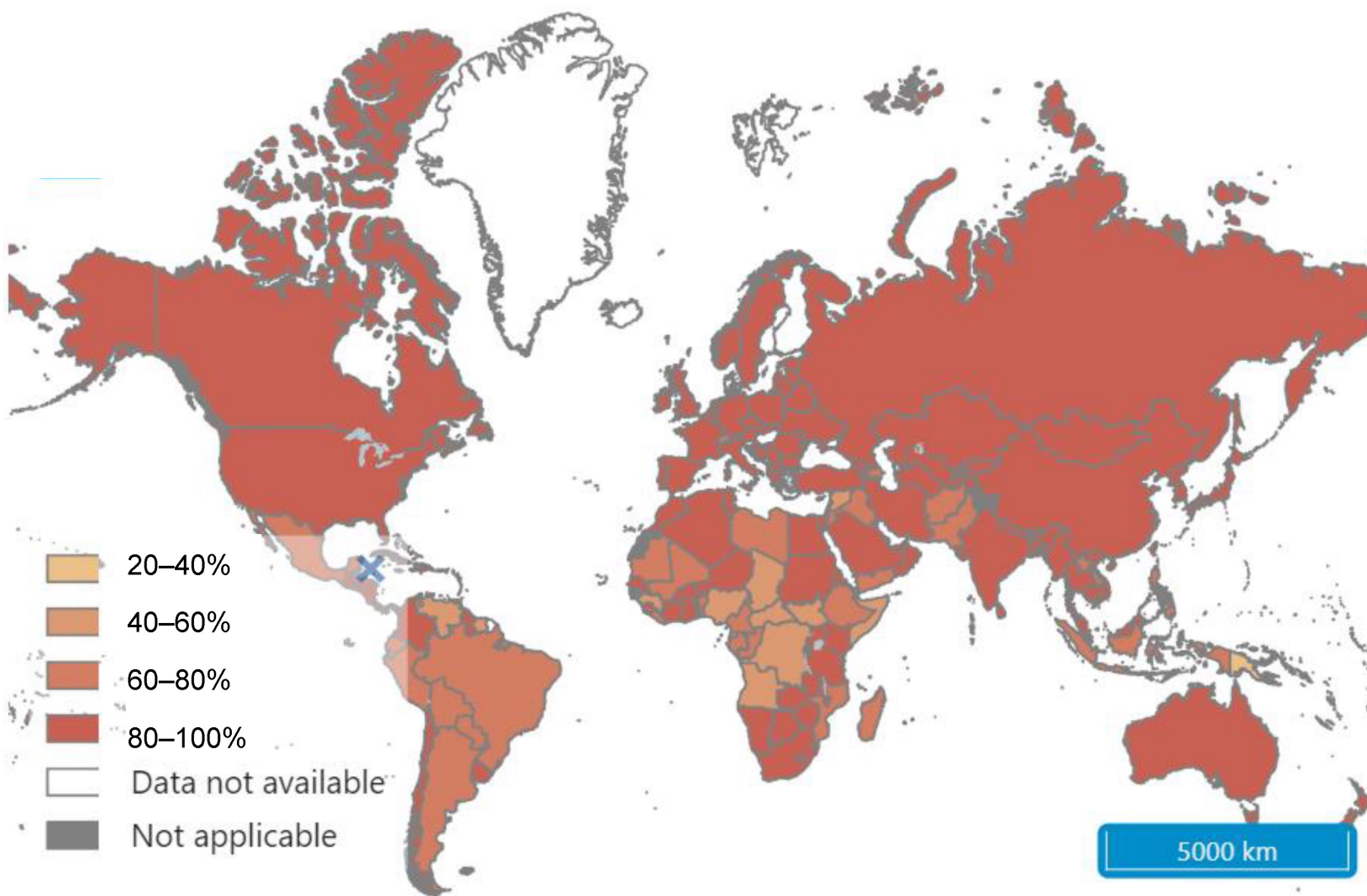
3

Twinrix®

1

2

3

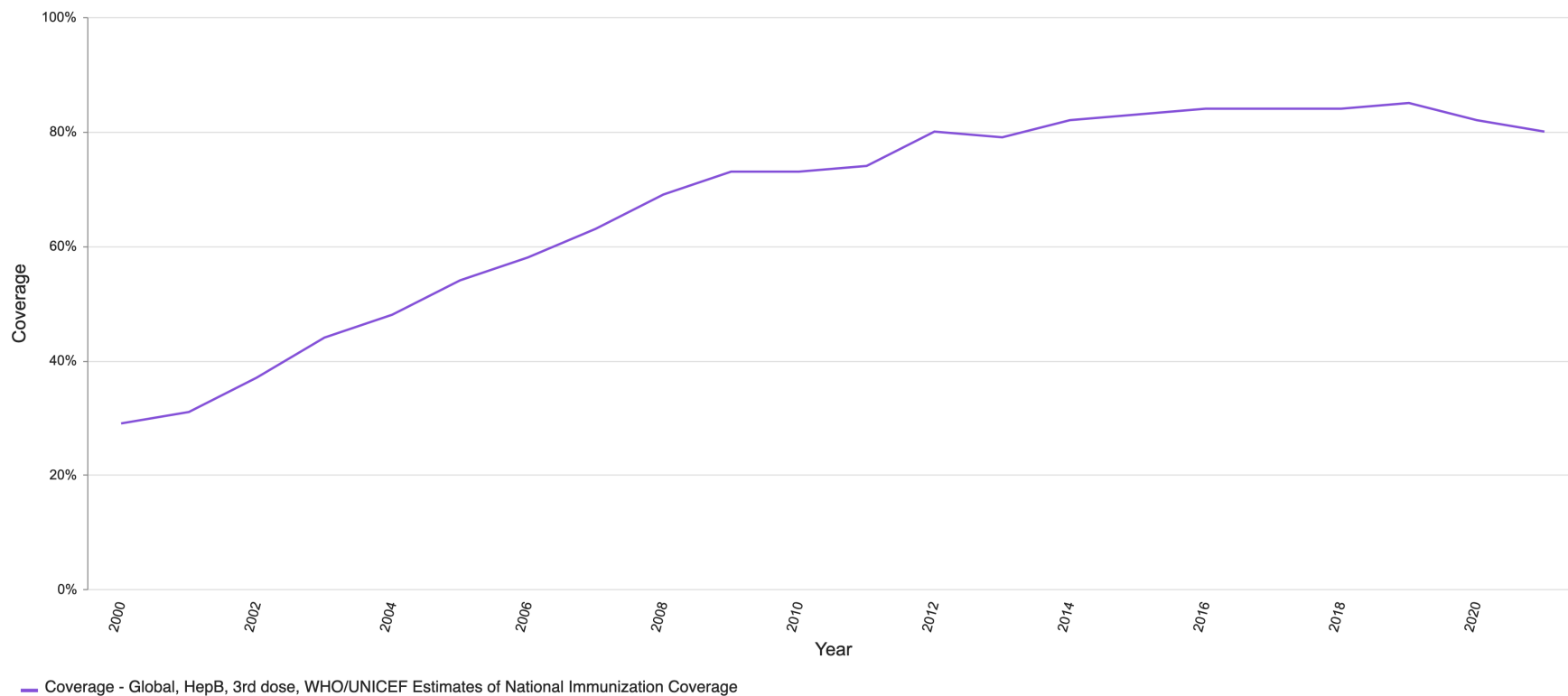


The boundaries and names shown and the designations used on this map do not imply the expression of any opinion whatsoever on the part of the World Health Organization concerning the legal status of any country, territory, city or area or of its authorities, or concerning the delimitation of its frontiers or boundaries. Dotted and dashed lines on maps represent approximate border lines for which there may not yet be full agreement.



© WHO 2022. All rights reserved.

Hepatitis B vaccination coverage by year



Source: WHO Immunization Data portal

Date of export: 15/3/2023

World Health Organization, WHO, 2022, All rights reserved

Hepatitis B Cases 1966-2011

