

VACCINI E VACCINAZIONI

Fabrizio Ber

Modulo di MICROBIOLOGIA ED IMMUNOLOGIA

Insegnamento di MICROBIOLOGIA E PARASSITOLOGIA; CdL Medicina Veterinaria

Anno accademico

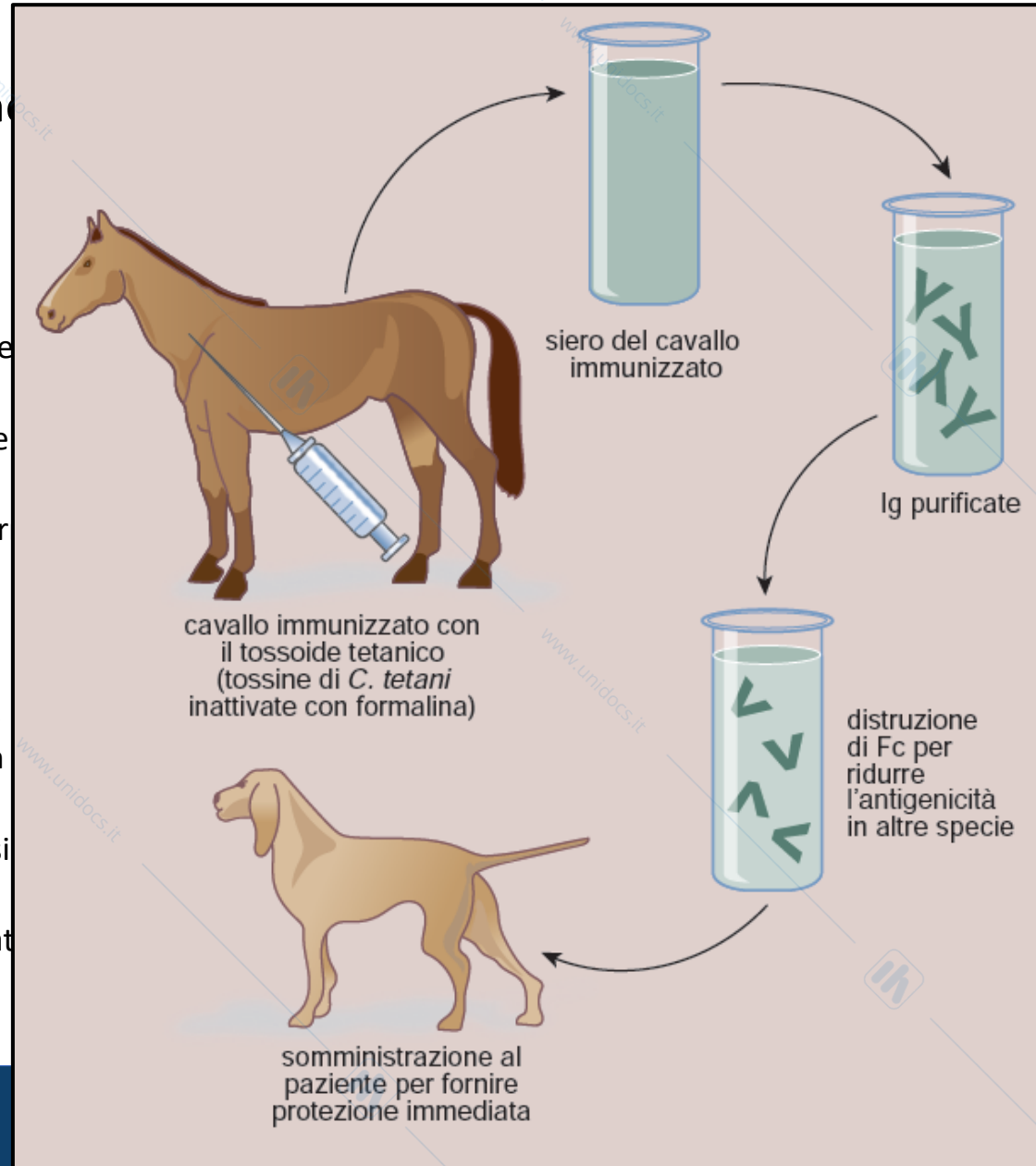
UNIVERSITÀ DI PISA

IMMUNIZZAZIONE

- Rendere un animale immune nei confronti di una determinata malattia infettiva;
- Immunizzazione passiva:
 - Trasferimento di anticorpi da un soggetto donatore a uno ricevente;
 - Immunità passiva naturale: trasferimento di anticorpi dalla madre alla prole,
 - Immunizzazione passiva artificiale: fornire a un soggetto che ne ha bisogno una protezione immediata ma temporanea in situazioni di emergenza.
- Immunizzazione attiva:
 - Somministrazione di un antigene a un animale, che quindi risponde montando una risposta immunitaria specifica;
 - Successive re-immunizzazioni o esposizioni allo stesso agente infettante porteranno a una risposta secondaria e a una maggiore immunità;
 - la protezione non si instaura immediatamente ma, una volta stabilita, perdura a lungo.

IMMUNIZZAZIONE

- Rendere un animale immune non
- Immunizzazione passiva:
 - Trasferimento di anticorpi da un soggetto
 - Immunità passiva naturale: trasferimento
 - Immunizzazione passiva artificiale: for
- Immunizzazione attiva:
 - Somministrazione di un antigene a un
 - Successive re-immunizzazioni o esposi
 - la protezione non si instaura immediat



IMMUNIZZAZIONE

- Rendere un animale immune nei confronti di una determinata malattia infettiva;
- Immunizzazione passiva:
 - Trasferimento di anticorpi da un soggetto donatore a uno ricevente;
 - Immunità passiva naturale: trasferimento di anticorpi dalla madre alla prole,
 - Immunizzazione passiva artificiale: fornire a un soggetto che ne ha bisogno una protezione immediata ma temporanea in situazioni di emergenza;
- Immunizzazione attiva:
 - Somministrazione di un antigene a un animale, che quindi risponde montando una risposta immunitaria specifica;
 - Successive re-immunizzazioni o esposizioni allo stesso agente infettante porteranno a una risposta secondaria e a una maggiore immunità;
 - La protezione non si instaura immediatamente ma, una volta stabilita, perdura a lungo.

VACCINAZIONE - DEFINIZIONE (1)

- Immunizzazione attiva di un soggetto sano ottenuta mediante somministrazione di una preparazione antigenica, costituita da microrganismi interi, frazioni di questi o loro prodotti, nel tentativo di indurre protezione nei confronti di una determinata malattia infettiva.

VACCINAZIONE - DEFINIZIONE (2)

- Il prodotto somministrato, denominato **vaccino**, stimola nell'ospite una reazione immunitaria specifica, di tipo prevalentemente umorale e cellulo-mediato a seconda del tipo di vaccino usato e della via di somministrazione, che lo aiuterà, in futuro, nella protezione nei confronti dell'aggressione dello stesso patogeno verso cui è stato vaccinato.

VACCINAZIONE - DEFINIZIONE (3)

- La vaccinazione è un “**trucco**” volto a ingannare il sistema immunitario inducendolo a credere di trovarsi di fronte a un’infezione e a reagire di conseguenza;
- Il vaccino sarà tanto più efficace come «trucco» quanto più assomigli al vero aggressore e sarà in grado di attivare i meccanismi immunitari che farebbe il patogeno di campo.

VACCINAZIONE - DEFINIZIONE (4)

- “vaccinazione” non è sinonimo di “protezione”:
 - Nessun vaccino, per valido che sia, è in grado di stimolare un’immunità protettiva nel 100% della popolazione vaccinata,
 - ✓ Una certa percentuale di animali non è comunque protetta e sfortunatamente, da un punto di vista individuale, questo costituisce un insuccesso vaccinale;
 - Non tutti i vaccini proteggono dall’infezione ma solo dallo sviluppo delle manifestazioni cliniche;
 - L’immunità conferita dalla vaccinazione non è infinita, ma ha una durata limitata nel tempo, più o meno lunga, valutata con studi sperimentali, e che può cambiare da soggetto a soggetto.

OBIETTIVI DELLA VACCINAZIONE

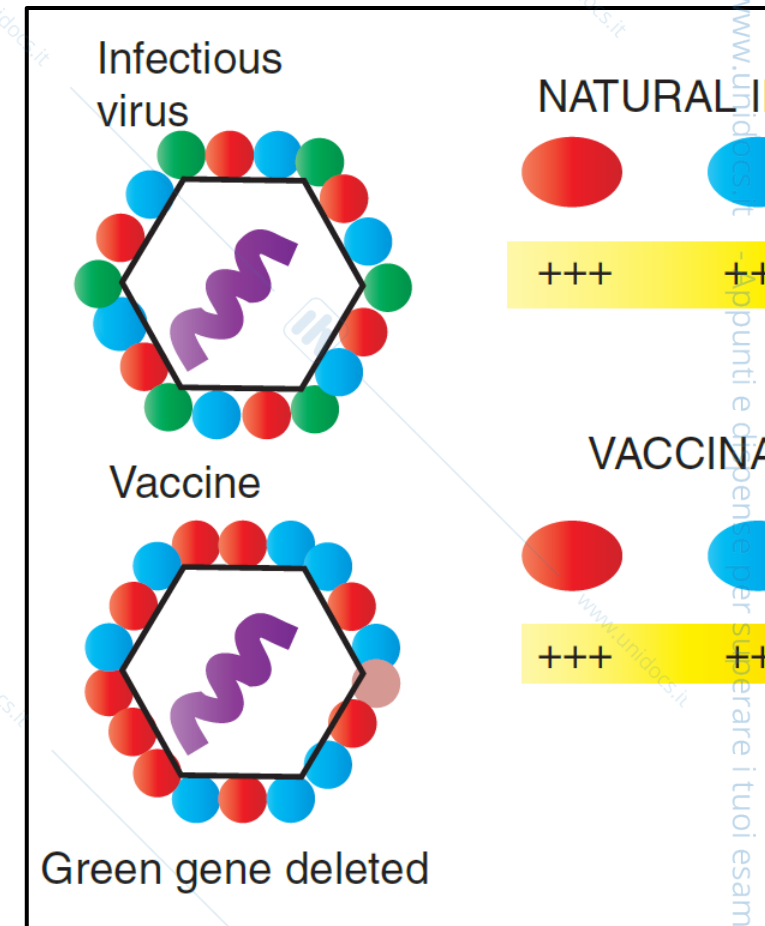
- Vaccinare il maggior numero possibile di animali nella popolazione a rischio;
- Vaccinare ogni animale con la giusta frequenza (non più spesso del necessario);
- Vaccinare ogni animale solo contro gli agenti infettivi per i quali esiste un reale rischio di esposizione, infezione e conseguente sviluppo di malattia;
- Vaccinare un animale solo quando i potenziali benefici della vaccinazione superano i potenziali rischi;
- Vaccinare gli animali in modo adeguato a proteggere la salute pubblica.

PROPRIETÀ DEL VACCINO “IDEALE”

- Essere di agevole produzione e avere un costo di sviluppo contenuto;
- Avere una formulazione costante con variazioni minime tra i diversi lotti;
- Essere stabile e resistente a sbalzi termici;
- Avere una lunga durata di conservazione (*shelf life*);
- Essere in grado di stimolare la risposta immunitaria più adatta per quel determinato patogeno;
- Avere un'ampia gamma di epitopi immunodominanti del patogeno bersaglio per poter attivare più cloni di linfociti T e B specifici;
- Essere in grado di evocare un'immunità di lunga durata;
- Essere capace di indurre una memoria immunologica;
- Non provocare reazioni avverse;
- Permettere di distinguere tra animali vaccinati e animali naturalmente infetti da quel patogeno (DIVA).

Il principio «DIVA»

- DIVA = *Differentiate Infected from Vaccinated Animals*;
- Un problema della vaccinazione è l'impossibilità di distinguere gli animali vaccinati da quelli naturalmente infetti;
- Problemi nei piani di controllo e eradicazione;
- Importanza e utilità di sviluppare vaccini che possono soddisfare il principio DIVA.



TIPI DI VACCINO

- Vaccini non infettivi:

- I microrganismi sono stati trattati in modo tale da perdere la capacità di replicarsi nell'organismo ospite e di causare quindi un'infezione (malattia);
- Sono meno efficaci degli infettivi;
- Richiedono in genere dosi ripetute e più ravvicinate per stimolare una valida protezione;
- Spesso sono associati a un adiuvante che ne potenzia l'immunogenicità.

- Vaccini infettivi:

- I microrganismi sono in grado di replicarsi nell'organismo ospite e di causare quindi un'infezione (malattia);
- Proteggono efficacemente e per lungo tempo.

TIPI DI VACCINO

- Caratteristiche delle due tipologie di vaccini:

Vaccini non infettivi	Vaccini infettivi
Stabili nella conservazione	Dosi richieste inferiori
Improbabile malattia per virulenza residua	Adiuvanti non necessari
Non si replicano nel ricevente	Minore probabilità di ipersensibilità
Improbabile presenza di microrganismi contaminanti	Induzione di interferone
Non si diffondono ad altri animali	Relativamente economici
Sicuri in pazienti immunodeficienti	Somministrabili per la via naturale
Più facili da conservare	Stimolano l'immunità umorale e cellulare
No rischi di reversione alla virulenza	Protezione di lunga durata

TIPI DI VACCINO

Vaccini non infettivi

Vaccini infettivi

VACCINI INATTIVATI

VACCINI VIVI ATTENUATI

VACCINI A SUBUNITÀ (DI SINTESI E RICOMBINANTI)

VACCINI ETEROLOGHI

VIRUS-LIKE PARTICLES

VACCINI A VETTORE RICOMBINANTI

VACCINI ANTI-IDIOTIPO

VACCINI DELETI

VACCINI A DNA E RNA

UNIVERSITÀ DI PISA

ADIUVANTI

- Sostanze aggiunte ai vaccini nel tentativo di migliorare la stimolazione risposta immunitaria, per migliorare l'efficacia di vaccini poco immunogeni;
- Gli adiuvanti maggiormente utilizzati in medicina veterinaria sono:
 - Sali di alluminio (soprattutto idrossido): notevole sicurezza, in grado di stimolare una risposta immunitaria prevalentemente umorale;
 - Saponine, glicosidi triterpenoidi estratti da piante (per es., Quil A, estratto dalla Quillaja saponaria): spiccato effetto immunomodulante e quindi in grado di stimolare entrambi i tipi di risposta immunitaria (umorale e cellulo-mediata).

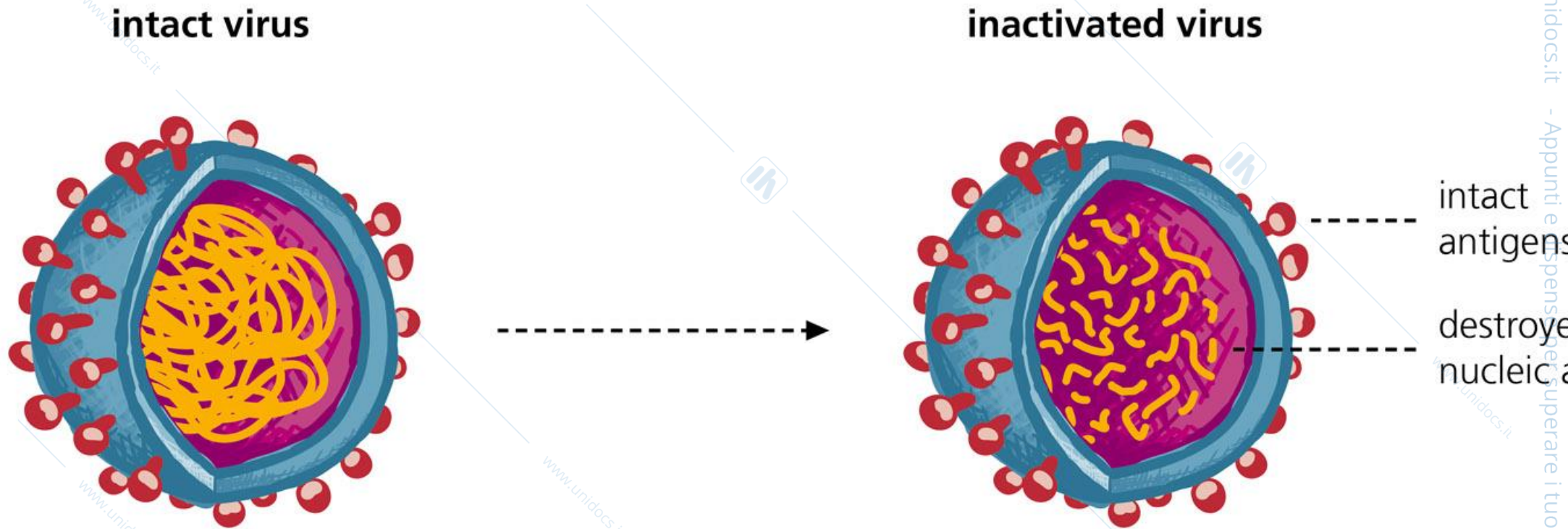
ADIUVANTI

- Aiutano a migliorare la risposta immunitaria in differenti modi:
 - Aumentano l'immunogenicità di antigeni debolmente immunogeni;
 - Migliorano la velocità e la durata della risposta immunitaria;
 - Modulano l'avidità degli anticorpi, la loro specificità, l'isotipo o la distribuzione delle sottoclassi;
 - Stimolano la presentazione dell'antigene e ne migliorano la captazione e la processazione;
 - Stimolano l'immunità cellulo-mediata;
 - Promuovono l'induzione di un'immunità mucosale;
 - Stimolano la risposta immunitaria in soggetti anziani o, al contrario, immunologicamente ancora immaturi;
 - Diminuiscono la dose di antigene nel vaccino riducendone di conseguenza i costi;
 - Aiutano a superare la competizione antigenica nei vaccini polivalenti;
 - Intrappolano l'antigene al sito di inoculo e lo rilasciano in piccola quantità (effetto deposito).

VACCINI NON INFETTIVI - VACCINI INATTIVI

- Noti anche come vaccini uccisi, spenti, morti, killed;
- Costituiti da microrganismi interi e quindi antigenicamente intatti, cui è stata eliminata completamente la virulenza;
- I microrganismi perdono la capacità di replicarsi e di causare malattia, ma conservano intatte le loro proteine costitutive e quindi il loro potere immunogeno;
- Metodi di inattivazione:
 - Fisici: calore o radiazioni;
 - Chimici: formalina o agenti alchilanti quali b-propiolattone o etilenimina.

VACCINI NON INFETTIVI - VACCINI INATTIVI



- Chimica: formalina o agenti alchilanti quali b-propiolattone o etilenimina.

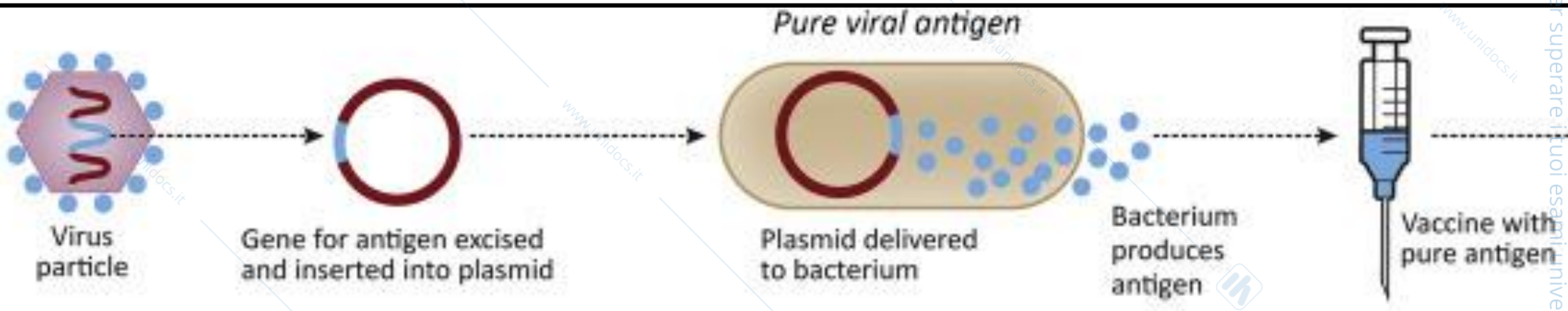
UNIVERSITÀ DI PISA

VACCINI NON INFETTIVI - VACCINI INATTIVI

- Spesso associati a un adiuvante;
- Protezione di breve durata: circa 1 anno o meno;
- Richiedono in genere somministrazioni ripetute;
- Importanti vaccini inattivati per uso veterinario: rabbia e gran parte delle m batteriche (in questo caso definiti batterine);
- In questo tipo di vaccini si possono includere anche le preparazioni immunitarie allestite con tossine batteriche: tossoidi o anatossine (vaccino antitetanico).

VACCINI NON INFETTIVI - VACCINI A SUBUNITA

- Individuare singoli epitopi e proteine ad attività protettiva presenti sui microrganismi patogeni → artificialmente mediante:
 - Sintesi (pratica poco usata);
 - Tecnologia del DNA ricombinante;



UNIVERSITÀ DI PISA

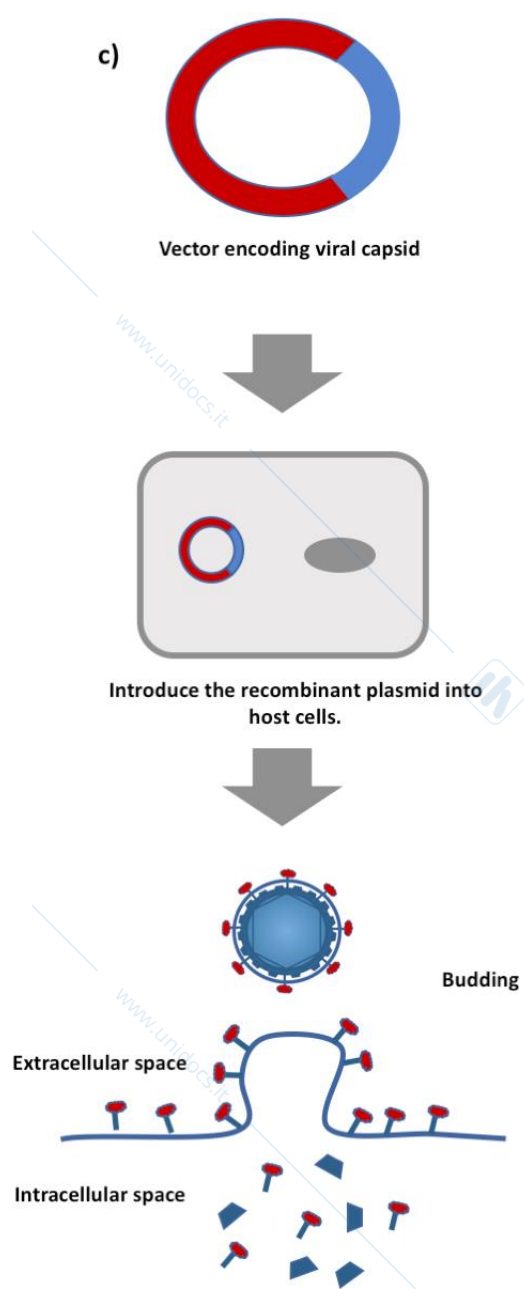
VACCINI NON INFETTIVI - VACCINI A SUBUNITÀ

- Sono diversi da quelli che utilizzano vettori ricombinanti, in quanto l'antigene preformato (ricombinante) è prodotto in grande quantità *ex vivo* e poi somministrato all'animale in seguito a purificazione.
- Vaccini veterinari a subunità: leucemia felina, afta epizootica;
- È possibile clonare il gene di interesse in delle piante (quali tabacco, patate, soia, riso e mais) e produrre vaccini transgenici: vaccino per la malattia di Newcastle in USA;
- Caratterizzati da:
 - Elevata sicurezza,
 - Maggiore immunogenicità dovuta all'assenza di componenti immunodepressive o competitive,
 - Maggiore compatibilità fra le diverse valenze vaccinali e, di conseguenza, migliorata "architettura" di un vaccino.
- Svantaggio di avere un ridotto potere immunogeno → adiuvanti.

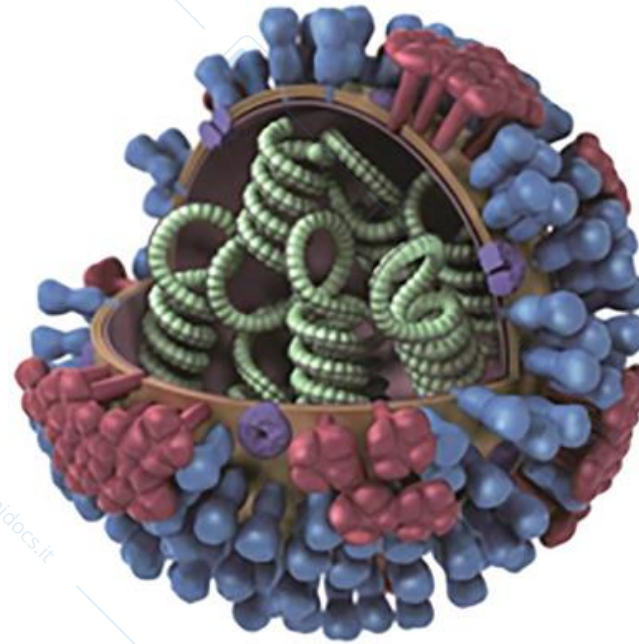
VACCINI NON INFETTIVI – VIRUS-LIKE PARTICLE

- Possono essere considerati una sottoclasse di vaccini a subunità;
- Le proteine del capside e degli antigeni di superficie di un virus sono fatti esprimere in batteri, lieviti, cellule di mammifero, di piante o di insetto;
- Le proteine così prodotte riescono ad assemblarsi e formare un capside completo, ma privo di materiale genetico;
- I capsidi «vuoti» così prodotti possono essere purificati e usati come vaccino;
- I capsidi «vuoti» mantengono la capacità di infettare le cellule, ma non sono ovviamente in grado di replicare.

VACCINI NON INFETTIVI – VIRUS-LIKE PARTICLES (2)

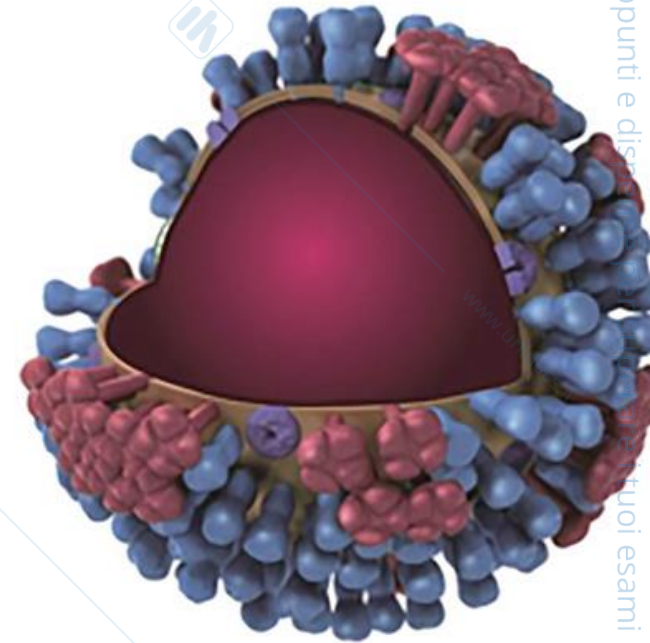


Influenza Virus



infectious

Synthetic Influenza Virus Like Particle (VLP)



safe

UNIVERSITÀ DI PISA

VACCINI NON INFETTIVI – ANTI IDIOTIPO

- L'idiotipo è la regione variabile dell'anticorpo, che contiene i siti di combinazione con l'antigene, ed è dotata di capacità antigenica;
- Rispecchia come un "calco" l'immagine dell'antigene;
- All'interno di esso si inserirebbe l'anticorpo anti idiotipo, simile alla struttura dell'antigene, ma diverso per la natura proteica;
- Questo può essere impiegato nella vaccinazione.

**ANTI-IDIO
VACC**

Antigen

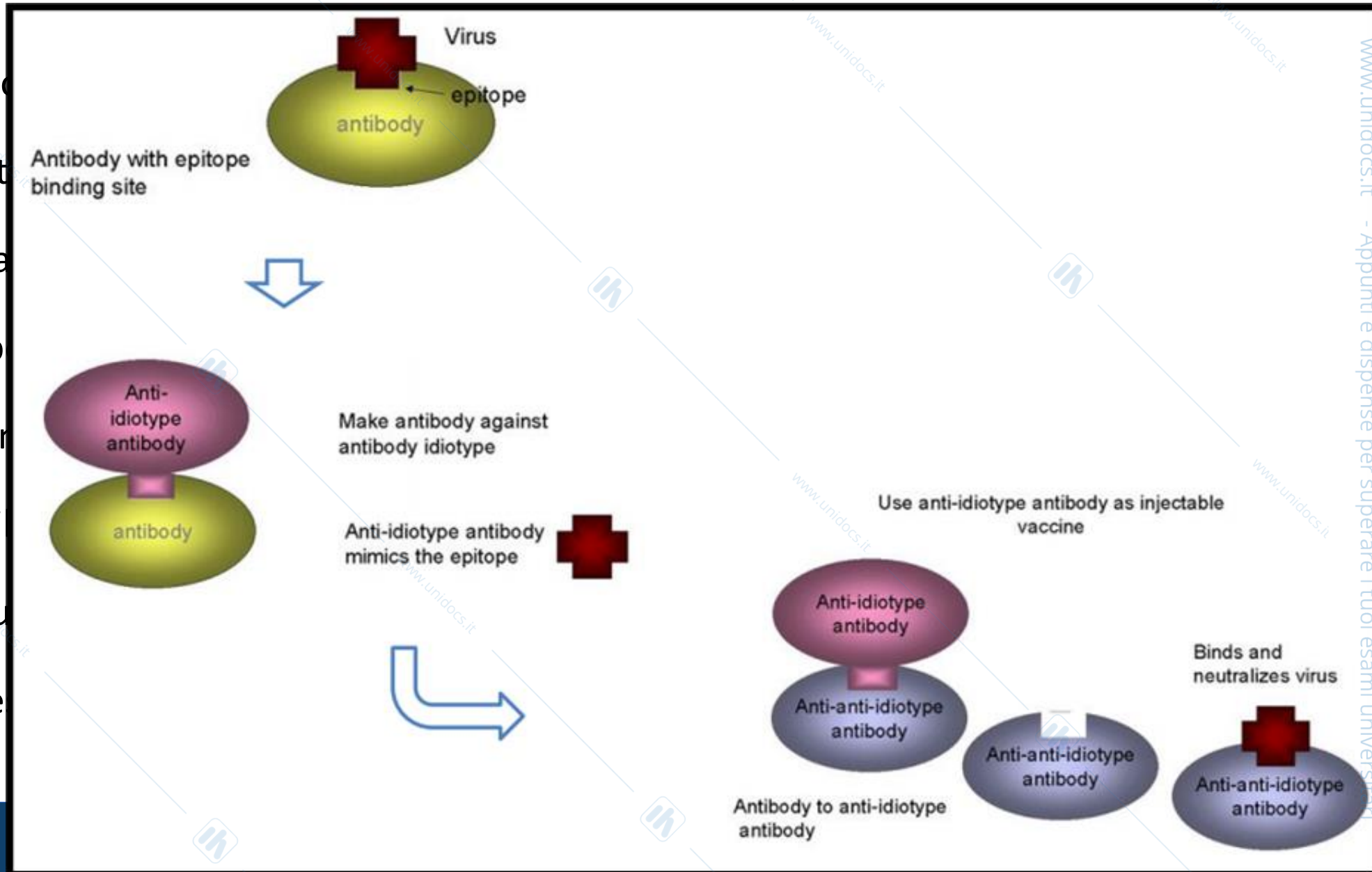
Idiotype



UNIVERSITÀ DI PISA

VACCINI NON INFETTIVI – ANTI IDIOTIPO

- L'idi
- cont
- dota
- Resp
- All'in
- simi
- natu
- Que



VACCINI INFETTIVI – VACCINI VIVI ATTENUATI

- Noti anche con la sigla MLV: *Modified Live Vaccines*;
- Sono quelli maggiormente utilizzati in medicina veterinaria;
- Costituiti da microrganismi completi, il cui potere patogeno diminuito o eliminato mantenendo l'immunogenicità e la capacità di replicarsi.

VACCINI INFETTIVI – VACCINI VIVI ATTENUATI

- Metodi di attenuazione:

- Passaggi seriali:

- ✓ Metodo più comune di attenuazione;
- ✓ In un ospite non naturale, su uova embrionate o *in vitro*, su terreni di coltura o colture cellulari ottenute da animali di specie anche della stessa specie animale cui è destinato il vaccino;
- ✓ Mutazioni casuali avvengono e si accumulano fino a creare mutanti avirulenti;
- ✓ Più facili da ottenere con agenti dal genoma piccolo come i virus;
- ✓ Più difficili da ottenere con i batteri;

- Adattamento a temperature di crescita più basse (virus):

- ✓ Perdita della capacità di replicare alla temperatura corporea;

- Utilizzo di mutageni.

VACCINI INFETTIVI – VACCINI VIVI ATTENUATI

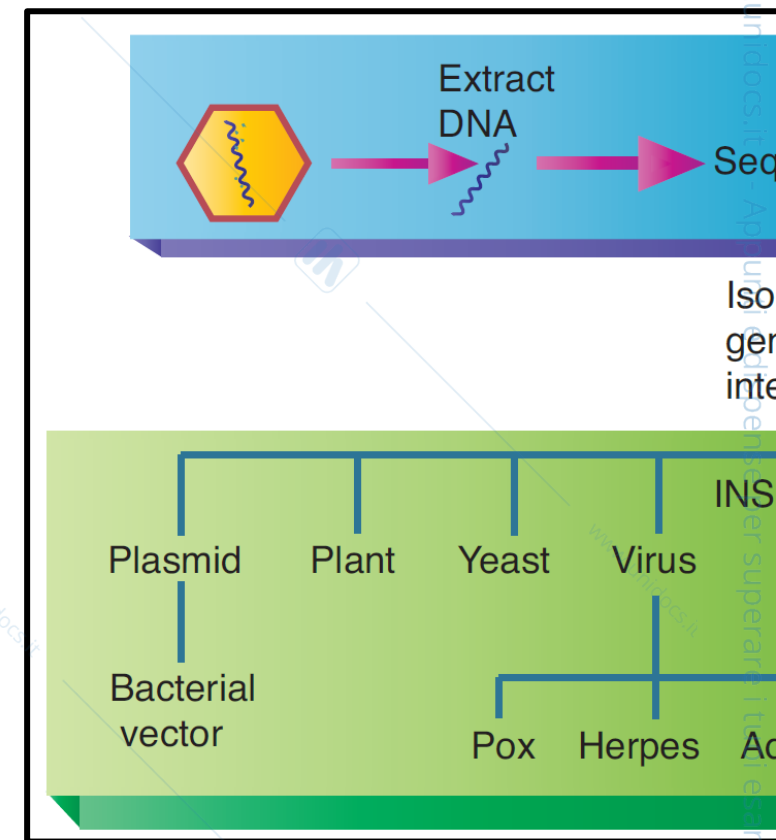
- Inducono una blanda infezione;
- Stimolano il completo range delle difese immunitarie tipiche dell'infezione naturale, senza però provocare la malattia;
- Stimolano una risposta immunitaria (umorale e cellulo-mediata) di lunga durata;
- Spesso necessitano di una o poche dosi;
- Possono mantenere una virulenza residua, sia per l'animale per cui sono destinati, che per altri animali e per l'uomo;
- Possono ritornare pienamente virulenti o diffondersi ad animali non vaccinati;
- Possibile contaminazione con altri organismi;
- Meno stabili e richiedono specifiche condizioni di conservazione.

VACCINI INFETTIVI – VACCINI ETEROLOGHI

- Utilizzo di microrganismi antigenicamente correlati al patogeno bersaglio;
- Generalmente adattati a un'altra specie ospite o apatogeni;
- Permettono di anticipare l'età utile per la vaccinazione:
 - No sviluppo di malattia nel cucciolo,
 - Minore interferenza degli anticorpi materni;
- Preparano l'organismo a una vaccinazione con un altro vaccino, generalmente un vivo attenuato;
- Non molto utilizzati perché non molto efficaci;
- Esempi in medicina veterinaria:
 - Morbillo umano per cimurro nel cane,
 - Herpesvirus del tacchino per la malattia di Marek nel pollo,
 - Virus del fibroma di Shope per la mixomatosi nel coniglio.

VACCINI INFETTIVI – VACCINI A VETTORE RICOMBINANT

- Utilizzano un microrganismo vettore vivo ingegnerizzato per fargli esprimere, una volta inoculato nel soggetto da vaccinare, proteine virali appartenenti a uno o più altri patogeni;
- Sono stati studiati come vettori di espressione diversi virus (poxvirus, adenovirus) e batteri (*salmonelle*, *Escherichia coli*).



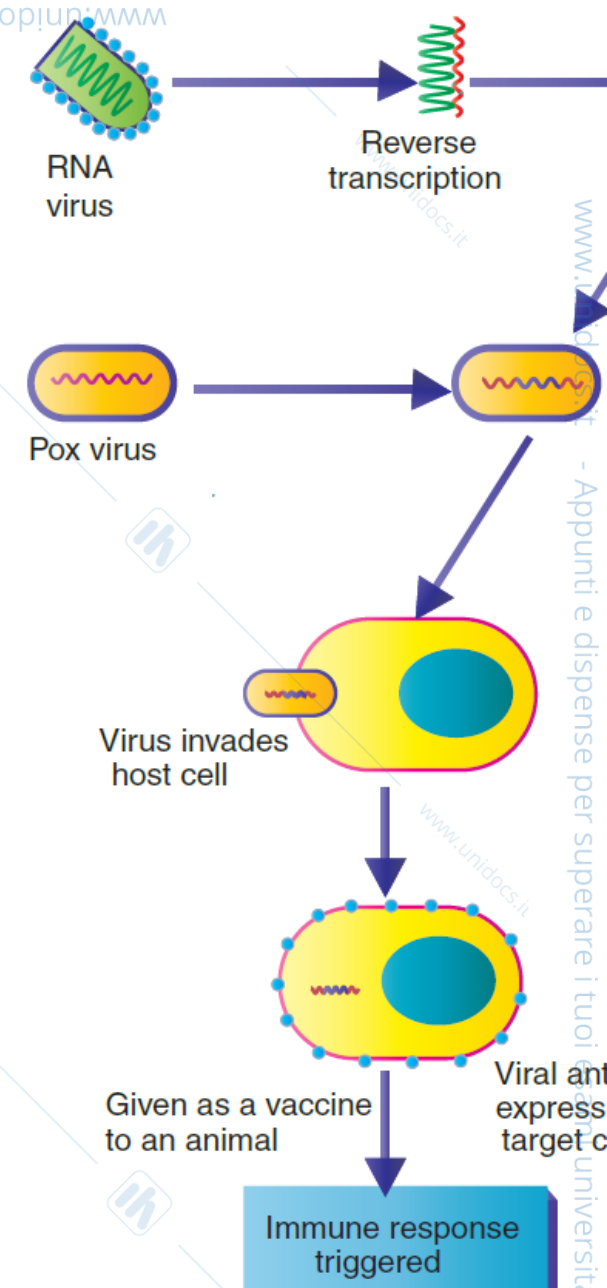
VACCINI INFETTIVI – VACCINI A VETTORE RICOMBINANTE (2)

I microrganismi vettori sono captati rapidamente dalle APC e stimolano una risposta immunitaria più efficace e protettiva.

Esempi di vaccini a vettore ricombinante disponibili in commercio o in fase di sviluppo per uso veterinario

Vector	Viruses
Vaccinia	Rabies Pseudorabies Equine influenza Japanese encephalitis
Capripox Canarypox	Rinderpest/PPR Rabies Distemper FPV Equine influenza West Nile Feline leukemia
Fowlpox	Avian influenza Laryngotracheitis Newcastle disease
Marek's/HVT	Newcastle disease Infectious bronchitis Avian influenza
Adenoviruses	Infectious bursal disease FMDV Rift Valley Fever Rabies Distemper Pseudorabies PPR
Newcastle Disease	Avian influenza Infectious bursal disease

FPV, Feline panleukopenia virus; FMDV, foot-and-mouth disease virus; PPR, peste des petites ruminants.

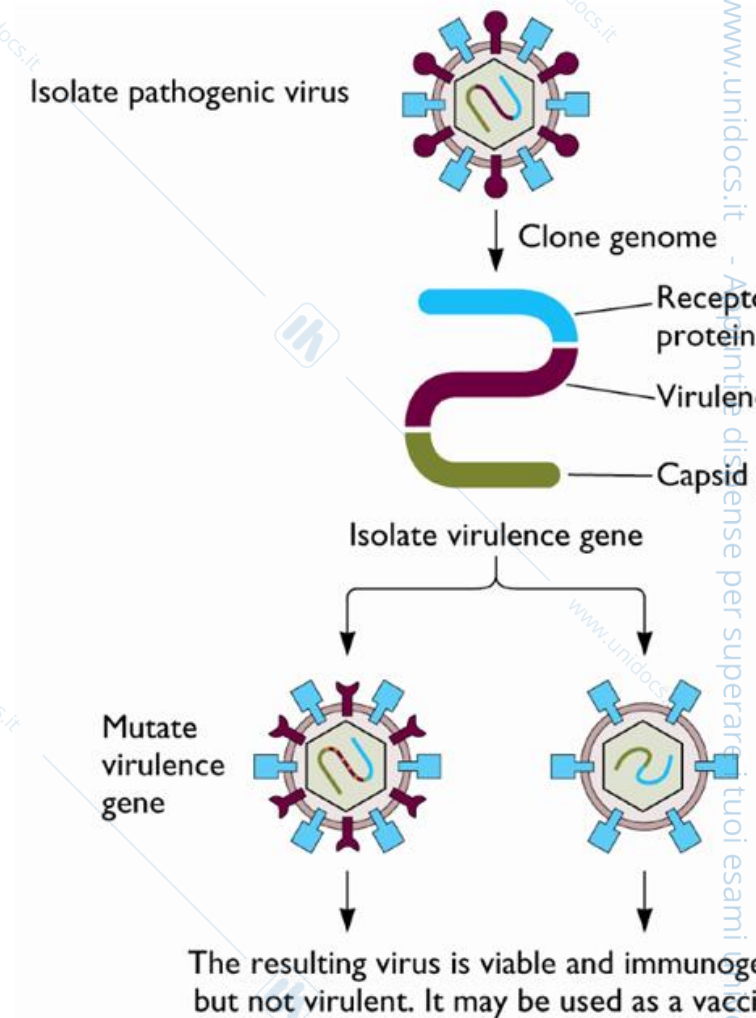


VACCINI INFETTIVI – VACCINI A VETTORE RICOMBINANT

- Permettono di far esprimere a un solo vettore più antigeni e quindi di proteggere così l'os
confronti di una o più malattie infettive;
- Sono più sicuri dei vivi attenuati o deleti;
- I vettori sono più facili da coltivare e manipolare → Maggiori quantità di «prodotto» in minor
produzione e di sviluppo;
- Inducono una risposta umorale e cellulo-mediata.

VACCINI INFETTIVI – VACCINI DELETI (1)

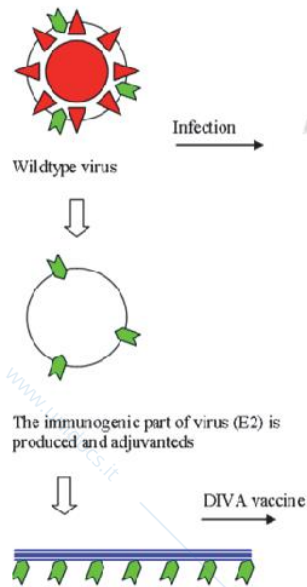
- Microrganismi geneticamente modificati, privati per delezione genomica dei geni di virulenza;
- Esempi in medicina veterinaria:
 - Vaccino contro la malattia di Aujeszky del suino,
 - Vaccino per IBR del bovino;
- Ottima immunizzazione e basso rischio.



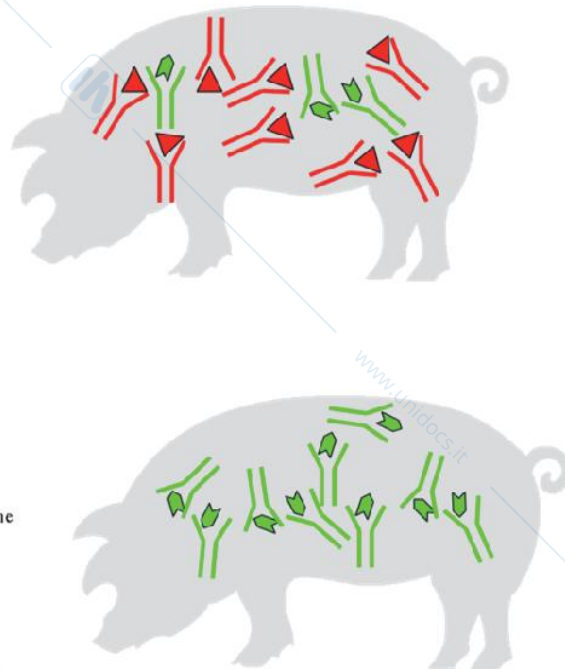
VACCINI INFETTIVI – VACCINI DELETI (2)











- Un'analoga manipolazione genetica è utilizzata anche per allestire i cosiddetti vaccini marker:
 - Doppia delezione: gene per la virulenza e gene per una glicoproteina non essenziale ma espressa in tutti gli isolati di campo di tali deleti per malattia di Aujeszky);
 - Possibilità di discriminare tra un animale vaccinato e un animale infetto.

A: CSF DIVA vaccine



B: Immune response of the pig



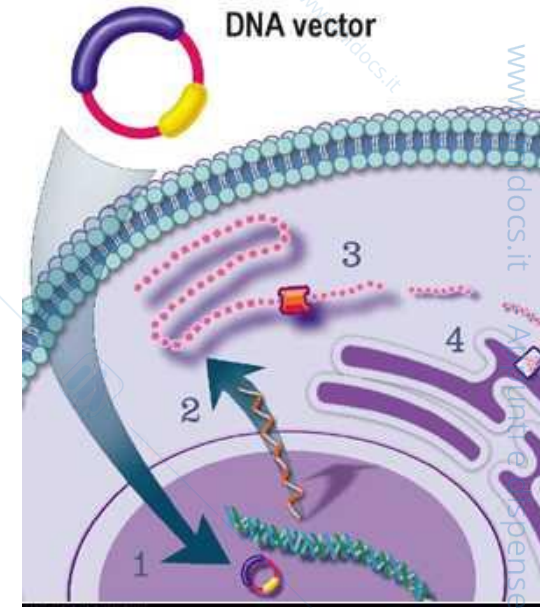
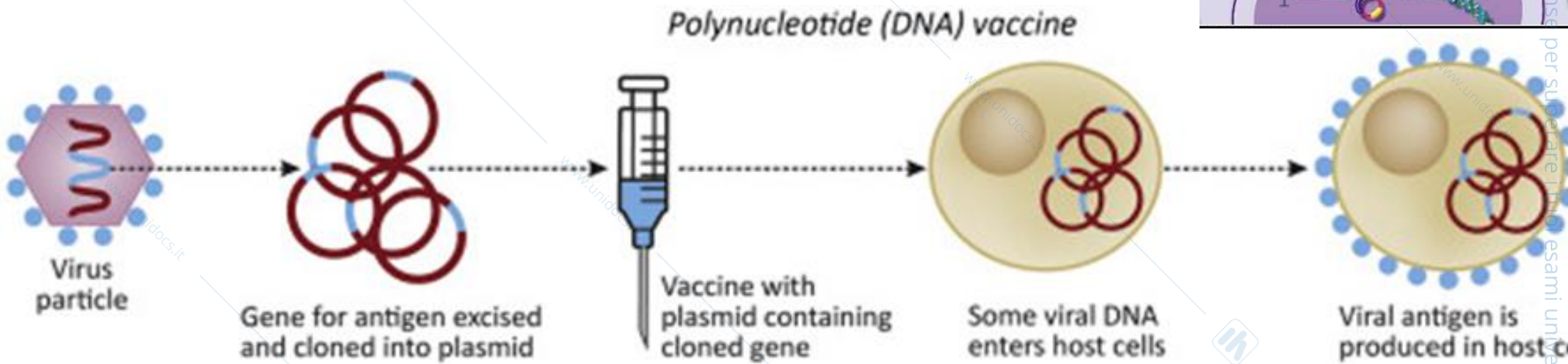
			Result blood
Infected cow		+ IBR-virus	
Non-infected cow			
Vaccinated cow		+ conventional vaccine	
Marker vaccinated cow		+ marker vaccine	
Marker vaccinated and infected cow		+ marker vaccine + IBR-virus	

UNIVERSITÀ DI PISA

VACCINI NON INFETTIVI – A DNA e RNA

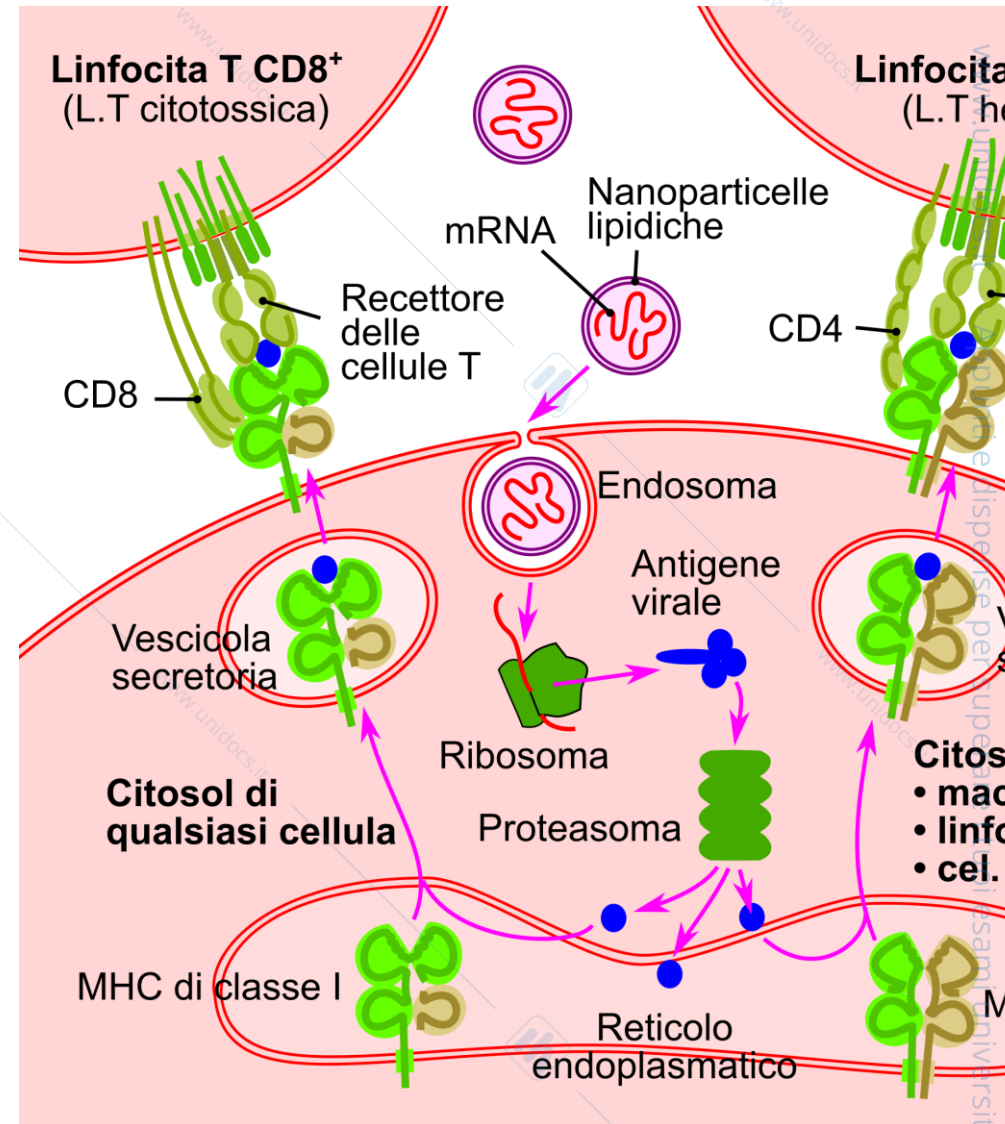
- Vaccini più moderni e innovativi;
- Il gene che codifica per l'antigene di interesse di un patogeno viene inserito in un plasmide che viene poi utilizzato come vaccino e inoculato in un animale;
- Il plasmide viene captato dalle cellule dell'ospite, il gene di interesse esprime la proteina codificata presentata attraverso MHC;
- Stimolano una risposta immunitaria sia umorale sia cellulo-mediata potente che fornisce una protezione estremamente elevata.

VACCINI NON INFETTIVI – A DNA e RNA (2)



VACCINI NON INFETTIVI – A DNA e RNA

- I vaccini a RNA sono simili ai precedenti come principio generale, ma viene inoculato un segmento di mRNA;
- Teoricamente più sicuri di quelli a DNA, perché l'mRNA ha emivita breve;
- Relativamente facili da produrre;
- Non necessitano di manipolare microrganismi per essere prodotti, perché sono completamente di sintesi;
- Non devono raggiungere il nucleo;
- Rapidamente captati dalle cellule e espressi.



UNIVERSITÀ DI PISA

VACCINI STABULOGENI

- Preparati a partire da microrganismi patogeni o loro prodotti tossici, isolati da soggetti colpiti dalla forma clinica dominante presente in un allevamento e destinati a trattare gli animali di quel particolare allevamento da cui sono stati isolati;
- Hanno una grande importanza nella realtà locale del territorio;
- Sono vaccini inattivati e addizionati di adiuvanti;
- Agiscono secondo una duplice azione: preventiva sui soggetti non ancora colpiti dalla forma infettiva e curativa per i soggetti con la forma morbosa;
- La loro produzione è di competenza esclusiva degli Istituti Zooprofilattici Sperimentali;
- Possono essere impiegati esclusivamente negli allevamenti colpiti dal focolaio epidemico da cui provengono i ceppi isolati, o in deroga in allevamenti non colpiti;
- Utili in prima battuta per malattie verso cui non sono ancora disponibili dei vaccini registrati;
- Sono il prodotto di elezione per quelle patologie minori, circoscritte a particolari zone geografiche, o per le cosiddette specie minori dal punto di vista della rappresentatività numerica, per le quali non esistono preparazioni commerciali.

AUTOVACCINI

- Detti anche vaccini autologhi;
- Sono utilizzati per il trattamento di singoli animali nei confronti di malattie infettive ad andamento cronico;
- Sono allestiti a partire da microrganismi isolati dal paziente stesso nel quale verranno successivamente reinoculati.
- Impiegati quasi esclusivamente e solo episodicamente come ausilio terapeutico in casi di picchi ricorrente o di papillomatosi del cane.

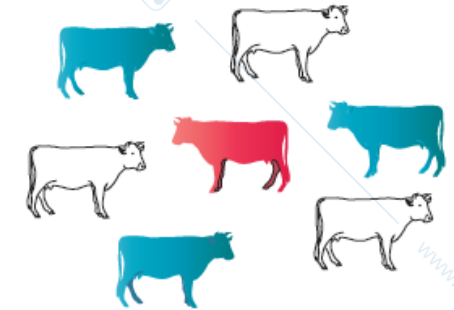
IMMUNITÀ DI POPOLAZIONE

- Detta anche immunità di gregge (*herd immunity*);
- La vaccinazione di un singolo individuo non solo protegge l'individuo stesso, ma riduce il numero di soggetti suscettibili nella popolazione, e quindi la prevalenza di una malattia;
- Riduce la probabilità che un soggetto suscettibile ne incontri uno infetto (o infettante), rallentando fino a interrompere del tutto la diffusione di una malattia;
- Per arrivare ad avere una buona immunità di popolazione è necessario che sia vaccinata un'elevata percentuale di individui, altrimenti una malattia infettiva può riemergere:
 - In medicina umana il valore soglia varia, a seconda degli autori, dal 70% al 95% della popolazione;
 - In medicina veterinaria i valori sono ben al di sotto di questa soglia.

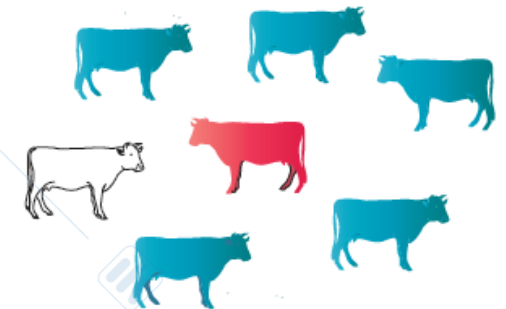
No immune animals.
Infection spreads to all.



50% immune animals.
Chances of spread halved.



85% immune animals.
Chances of spread 15%.



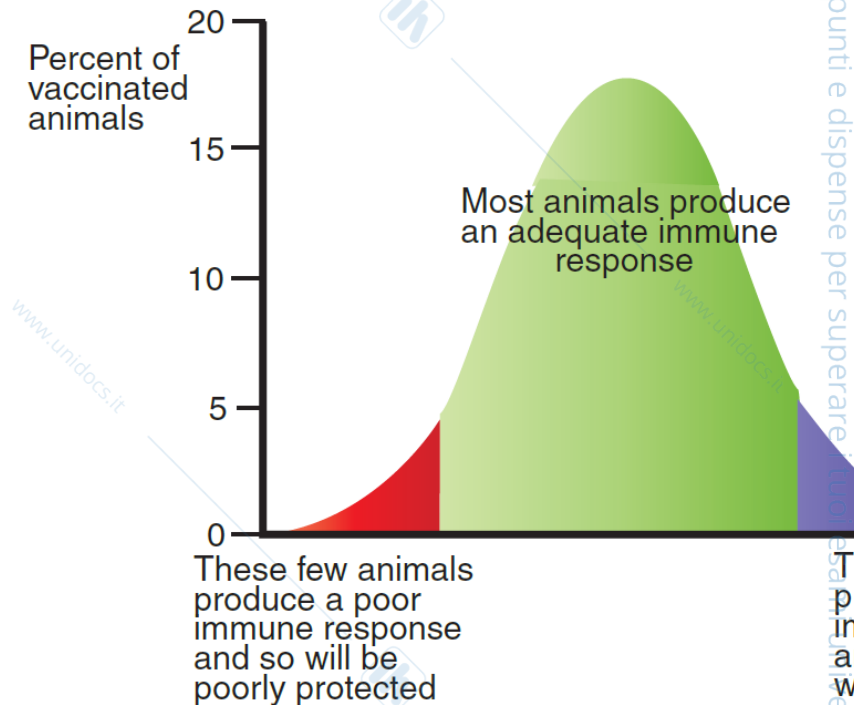
UNIVERSITÀ DI PISA

VACCINI MONOVALENTI E POLIVALENTI

- Vaccini monovalenti: diretti nei confronti di un singolo patogeno;
- Vaccini polivalenti: diretti nei confronti di più agenti patogeni
 - Vaccini contenenti 2 valenze (bivalenti), 3 (trivalenti), 4 (tetraivalenti), 5 (pentavalenti), 6 (esavalenti), 7 (eptavalenti), 8 (octavalenti);
- I vaccini polivalenti abbassano i costi di vaccinazione;
- Quando vengono somministrate diverse valenze contemporaneamente, queste competono tra loro nella stimolazione del sistema immunitario → equilibrio fra le valenze.

INSUCCESSI VACCINALI

- Non tutti i soggetti vaccinati rispondono in modo uguale alla vaccinazione;
- I motivi di un eventuale insuccesso vaccinale sono molteplici e possono essere legati al vaccino o all'animale immunitario.
- Fattori legati al vaccino:
 - Scarsa immunogenicità;
 - Errori in fase di allestimento e produzione del vaccino;
 - Fattori post-commercializzazione: scorretto trasporto o conservazione (es. rottura della catena del freddo), scorretta manipolazione del vaccino;
- Fattori legati all'animale:
 - Condizioni sfavorevoli: anziani, malnutriti, malati o immunodepressi;
 - Interferenza degli anticorpi materni.



VACCINAZIONE NEI CUCCIOLI

- Individuare il momento ideale per vaccinare in relazione alla presenza di anticorpi materni;
settimane/3 mesi;
- Richiamo entro 1 anno;
- Eventuali richiami annuali.

