

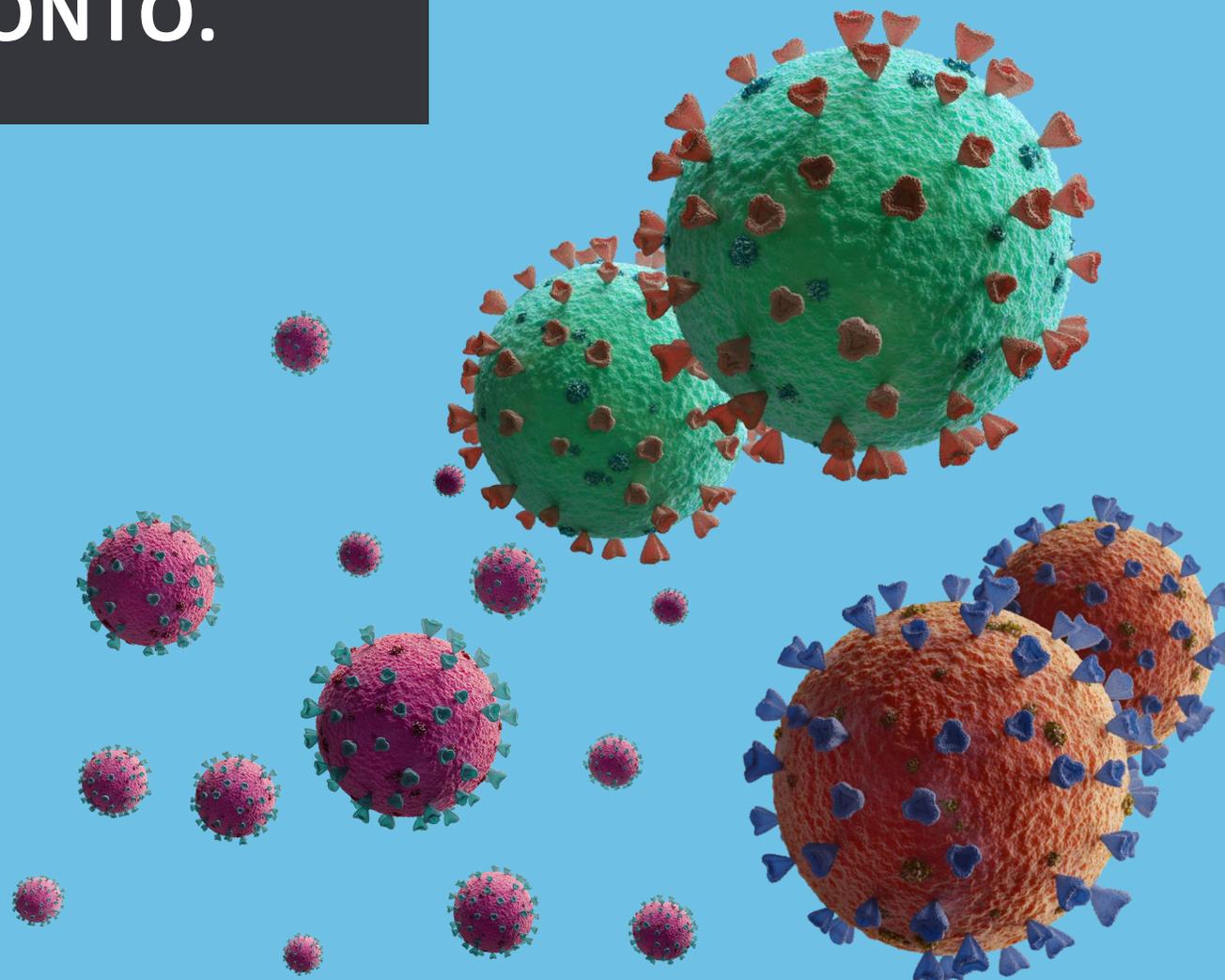
# CONOSCERE I VACCINI. INFORMAZIONI A CONFRONTO.



FEDERAZIONE  
RINASCIMENTO  
ITALIA



**Dr.ssa  
LORETTA BOLGAN**

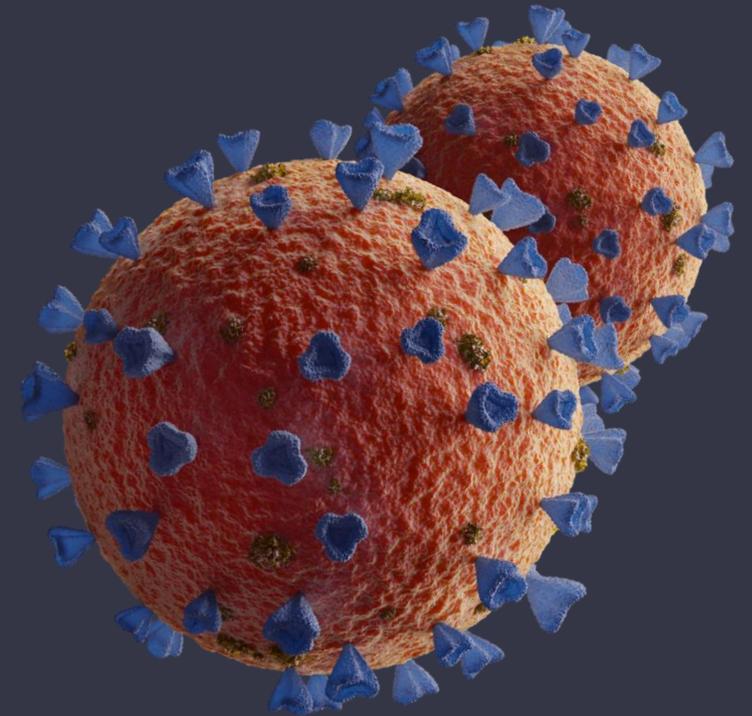


Settembre 2020

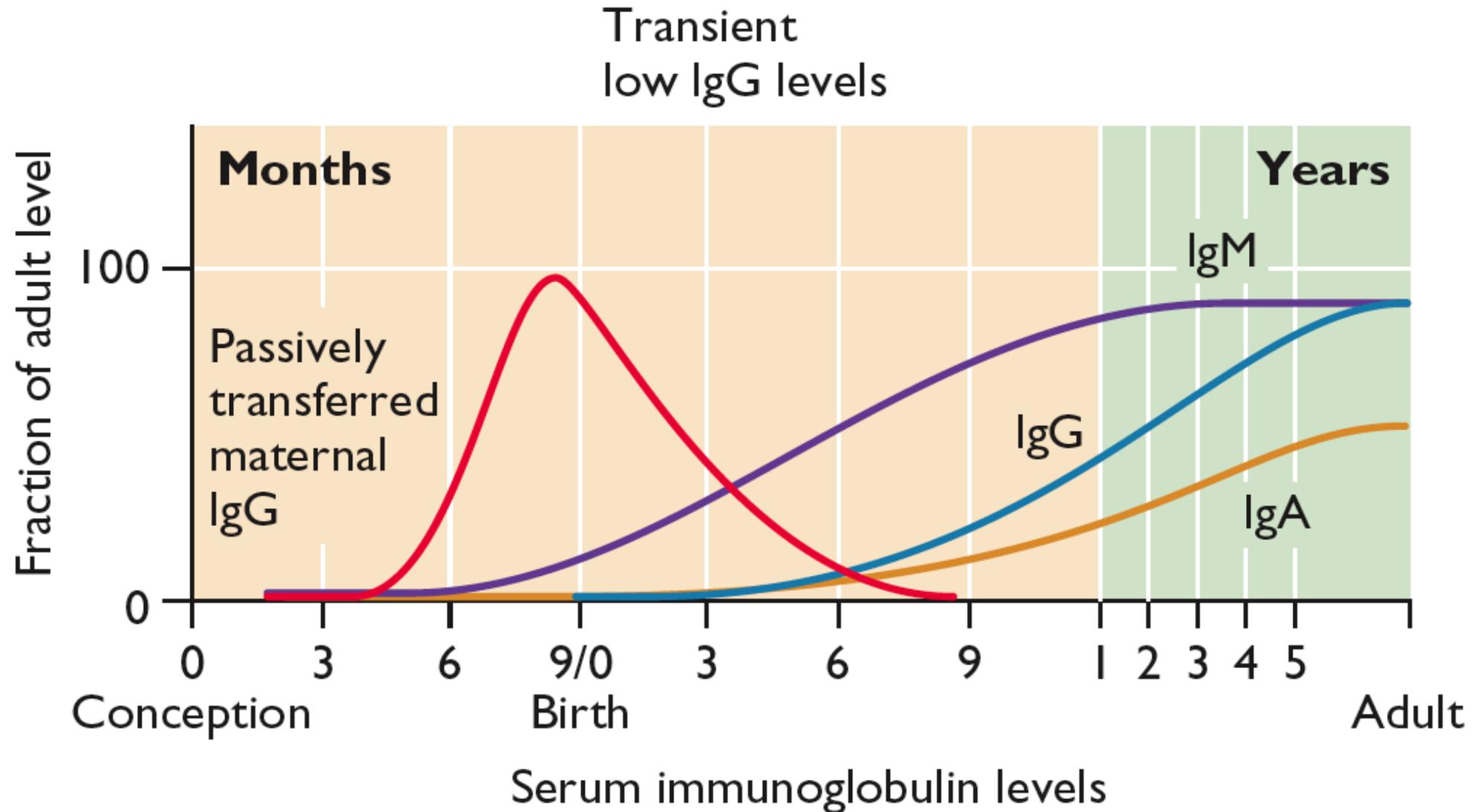
# IMMUNIZZAZIONE E VACCINAZIONE

**Immunizzazione** è il processo attraverso il quale una persona è resa immune o resistente a una malattia infettiva, normalmente attraverso la somministrazione di un vaccino. I vaccini stimolano il sistema immunitario del proprio organismo a proteggere la persona dalle successive infezioni o malattie. (definizione WHO)

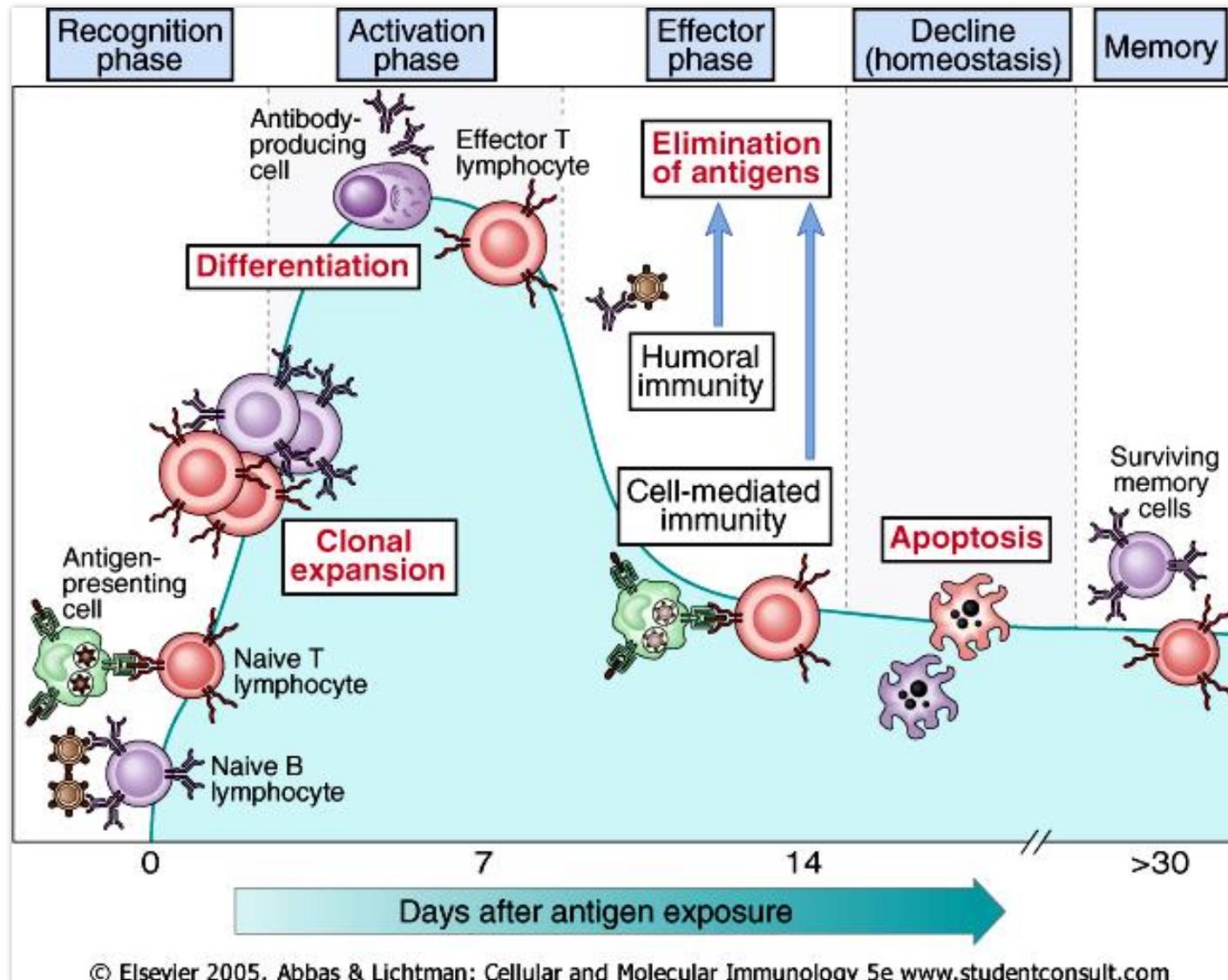
**Vaccinazione:** Iniezione di un organismo infettivo ucciso o attenuato con lo scopo di prevenire la malattia



# IMMUNIZZAZIONE E VACCINAZIONE



# IMMUNIZZAZIONE E VACCINAZIONE

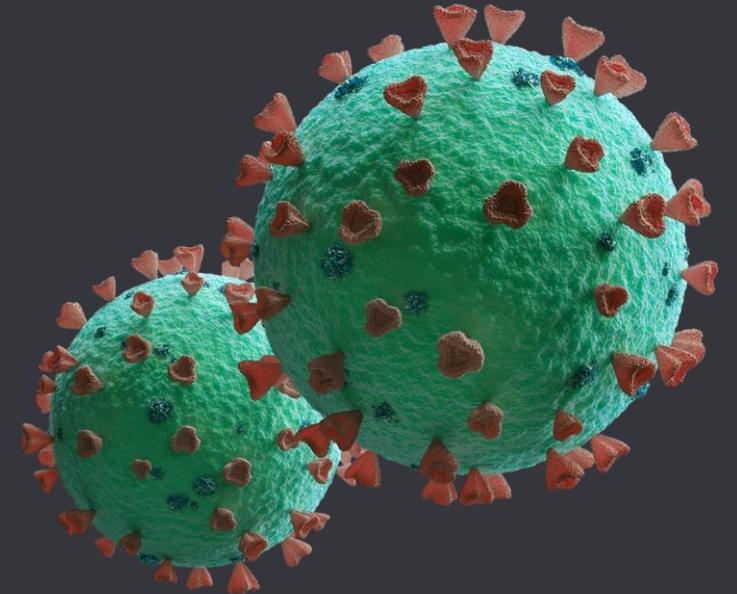


# DEFINIZIONE DI VACCINO

Un vaccino è una **preparazione biologica** che migliora l'immunità contro una particolare malattia.

Un vaccino tipicamente **contiene un agente che assomiglia ad un microrganismo che causa la malattia**, ed è spesso costituito da forme indebolite o uccise del microbo, dalle sue tossine o proteine di superficie.

L'agente **stimola il sistema immunitario del corpo** in modo che sia in grado di riconoscere l'agente come estraneo, di distruggerlo e "ricordarlo", così il sistema immunitario sarà in grado di riconoscere e distruggere più facilmente qualsiasi di questi microrganismi che incontrerà successivamente. (definizione WHO)

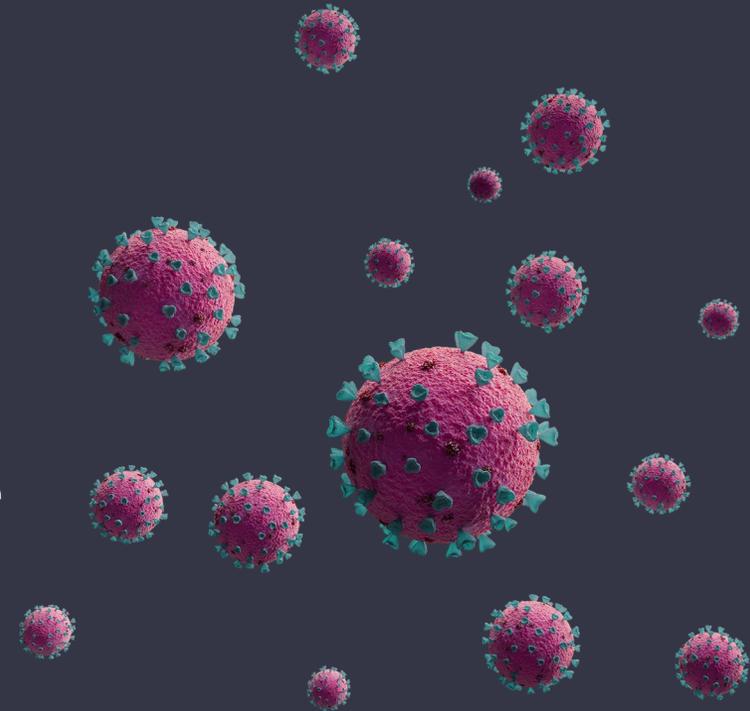


# COMPOSIZIONE DI UN VACCINO

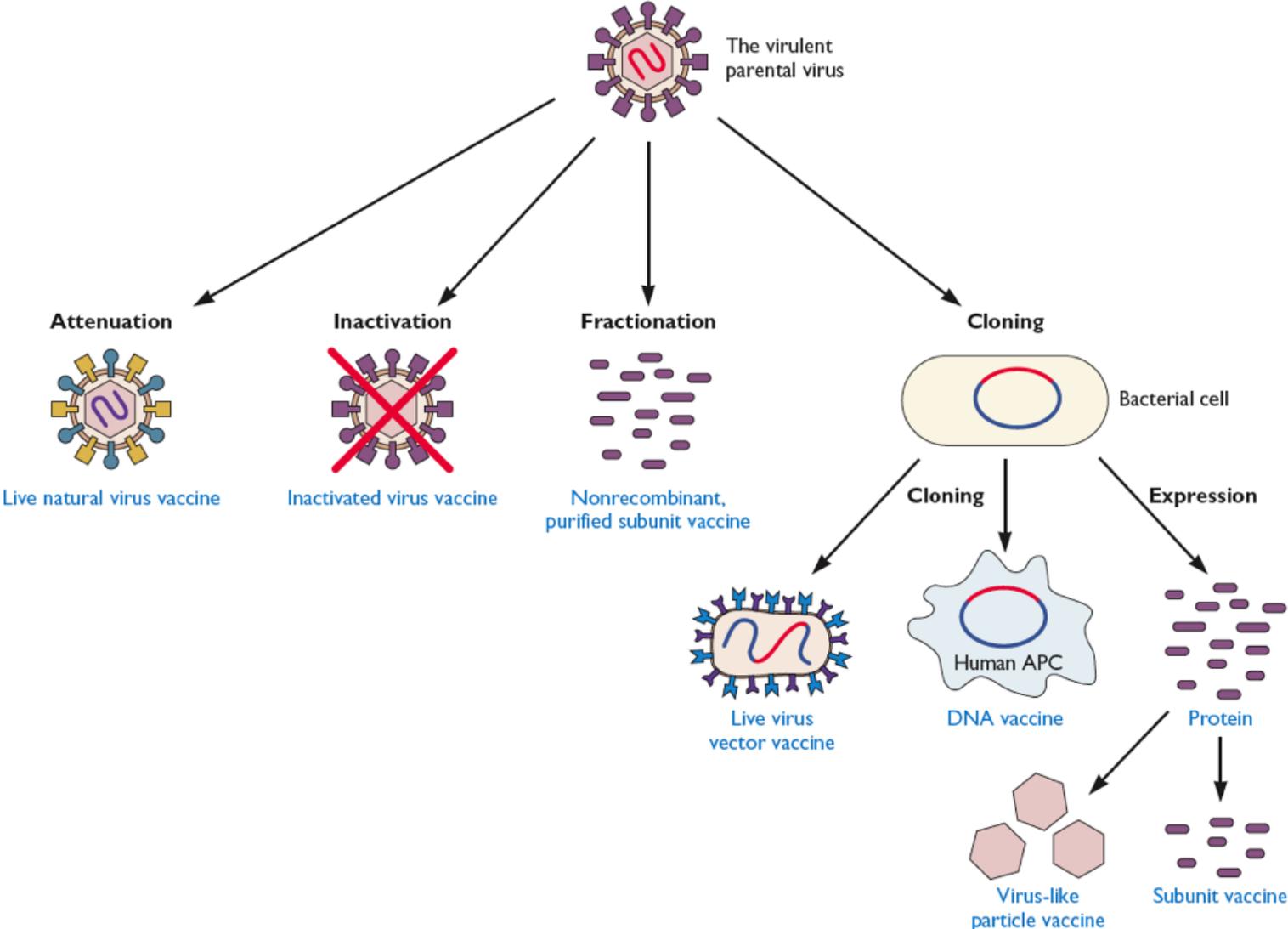
I vaccini sono costituiti da:

1. Antigeni
2. Adjuvanti
3. Conservanti
4. Eccipienti

Possono contenere *impurezze*  
(residui di lavorazione e contaminazioni) chimiche, biologiche  
ed elementari



# ANTIGENI



# ANTIGENI

Adjuvant	Composition		Major Immune Effects	
(vaccines where used)	Component	Origin	Other Uses	
<b>Aluminum</b> (D, T, pertussis, IPV, hepatitis A & B, HPV, meningococcal and pneumococcal)	Aluminum as salts mixed with antigen (adsorption)	Naturally occurring present in soil, water, air	Medicines, cosmetics, food industry	Increases local inflammation, improves antigen uptake by APCs. Acts to increase antibody production
<b>Virosomes</b> (Hepatitis and influenza)	Vesicles where influenza antigens in aqueous volume are enclosed within a standard phospholipid cell membrane bilayer	Natural phospholipids, Seasonal influenza glycoproteins	None	Increases uptake by APCs. May interact with B cells leading to T-cell activation.
<b>AS04</b> (Hepatitis B, HPV)	(3-deacyl-monophosphoryl lipid A) derived from LPS from <i>Salmonella Minnesota</i> , <i>Aluminum salts</i>	Natural exposure to LPS from Gram-negative bacteria occurs frequently	None	Directly stimulates TLR-4 increasing APC maturation and Th1 responses.
<b>MF59<sup>®</sup></b> (Influenza-seasonal and pandemic)	Squalene	Animal source (shark liver oil). Found naturally in human tissues: adipose tissues, skin, arterial walls, skeleton, muscles, lymph nodes	Cosmetics, moisturizers	Increases APC recruitment and activation. Promotes antigen uptake and migration of cells to lymph nodes.
<b>AS03</b> (Influenza-pandemic)	<ul style="list-style-type: none"> <li>Vitamin E (<math>\alpha</math>-Tocopherol)</li> <li>Surfactant polysorbate 80</li> <li>Squalene</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Naturally occurring in humans.</li> <li>Surfactant and emulsifier</li> <li>Animal source (shark liver oil). See above</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Vitamin</li> <li>Used in foods, eye drops &amp; intravenous injections</li> <li>Naturally occurring. See above</li> </ul>	Promotes local production of cytokines and recruitment of innate cells.
<b>Thermo-reversible oil-in-water</b> (Influenza-pandemic)	Squalene	Animal source (shark liver oil). See above	Naturally occurring. See above	Not reported
<b>ISA51</b> (therapeutic vaccine NSCLC)	Mineral oil DRAKEOL 6 VR Surfactant mannide-mono-oleate	Refined mineral oil of vegetable origin	Food industry	Strongly immunogenic

# ALLUMINIO ADIUVANTE

1 mg di  $Al^{+3}$  per via iniettiva (Infanrix hexa + Prevenar 13) equivale a circa 300 mg per via orale

Ad oggi mancano studi tossicologici sull'alluminio adiuvante per via iniettiva somministrato nella fascia di età pediatrica. Studi effettuati *in vitro* e sugli animali confermano la neurotossicità, genotossicità e immunotossicità dell'alluminio.

## RISPOSTA EMA

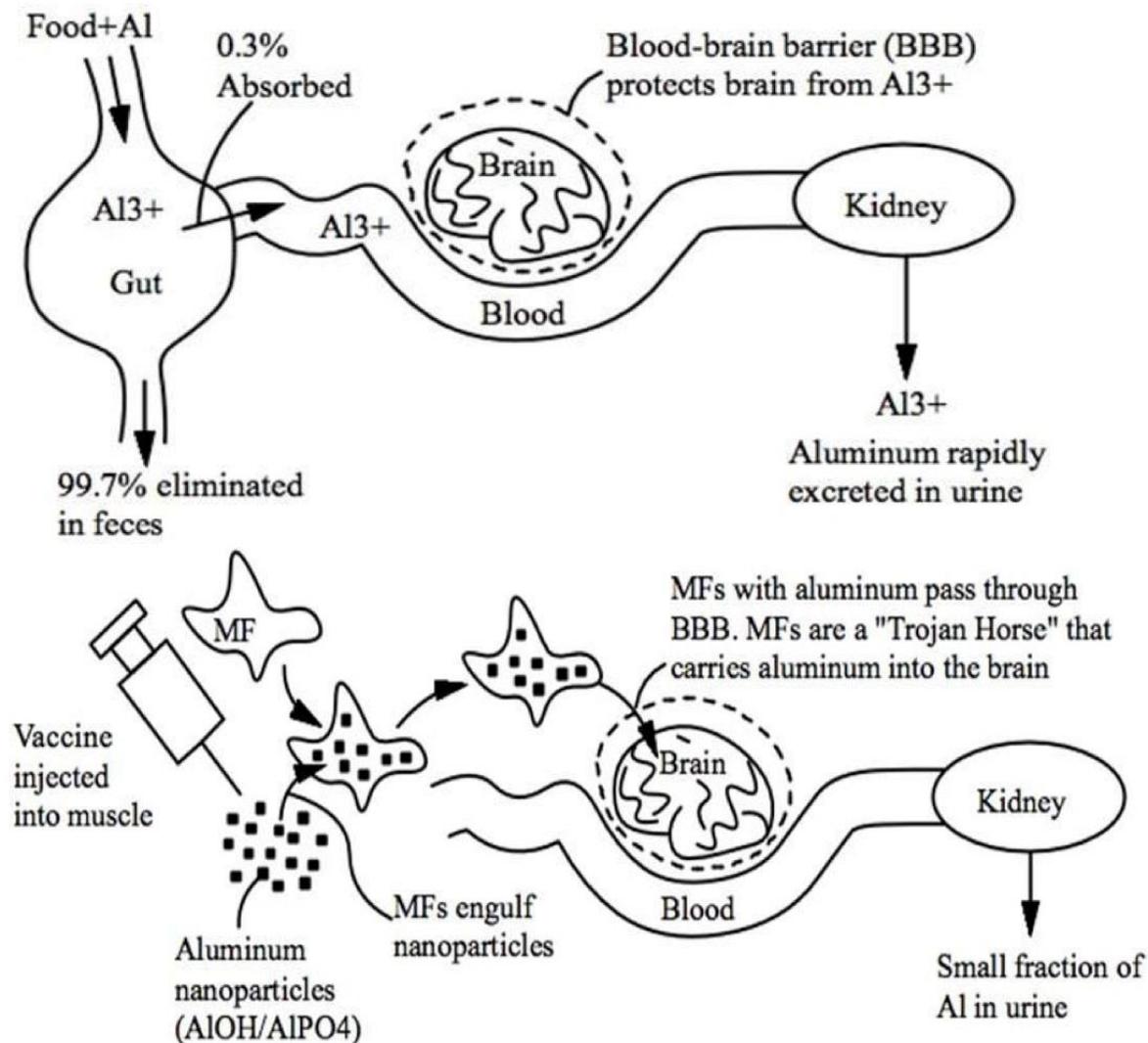
«l'uso di idrossido di alluminio e fosfato di alluminio nei vaccini come adiuvanti (usati per migliorare la risposta immunitaria) è ormai consolidato da molti anni. Una valutazione finale della sicurezza della nuova formulazione del vaccino può essere condotta solo sulla base di studi clinici.»

Studio citato da EMA, FDA e OMS sulla tossicologia dell'alluminio:

Vaccine. 2011 Nov 28;29(51):9538-43.

Updated aluminum pharmacokinetics following infant exposures through diet and vaccination.

Mitkus RJ<sup>1</sup>, King DB, Hess MA, Forshee RA, Walderhaug MO.



# IMPUREZZE NEI VACCINI ANALIZZATI



## VACCINI ESAMINATI: INFANRIX HEXA - HEXYON - GARDASIL 9 - PRIORIX TETRA

**CONTAMINAZIONI CHIMICHE-PROTEICHE:** presenza di **contaminanti chimici** noti e non noti (70-80%) in quantità non residuale (contaminazioni provenienti dalle materie prime e cross-contaminazioni da altri processi produttivi, tossine derivate dal processo di produzione: potenzialmente tossici e/o cancerogeni). **Proteine e peptidi** provenienti dalle linee cellulari (umane, di pollo, batteriche: allergeniche e/o autoimmunitarie)

**CONTAMINAZIONI BIOLOGICHE:** **virus avventizi:** retrovirus endogeni (potenzialmente cancerogeni e autoimmunitari)

**RESIDUI DI LAVORAZIONE:** **DNA/RNA** fetale umano, DNA/RNA embrionale di pollo, DNA/RNA dei frammenti L1 del papilloma virus

## CONTAMINANTI CHIMICI

Il dossier fa parte del documento tecnico comune (CTD) e i dettagli di fabbricazione sono inclusi nel Modulo 3. Va notato che la maggior parte delle informazioni del Modulo 3 è considerata **commercialmente riservata** e l'agenzia non è in grado di rilasciare questo su richiesta di una terza parte.

Sebbene **non si applichino specifici limiti uniformi** per la maggior parte delle sostanze elencate nella richiesta, vi sono requisiti per le avvertenze nell'etichetta del prodotto in specifiche circostanze per un certo numero di sostanze.

Si consiglia di consultare le **Schede di sicurezza dei materiali** per queste sostanze per ottenere informazioni sui loro livelli tossici. Il sito Web dell'Autorità europea per la sicurezza alimentare (EFSA), può anche fornire informazioni utili sui livelli tossici di tali sostanze in caso di **ingestione orale**.

# IMPUREZZE DI MATERIALE BIOLOGICO



## VIRUS AVVENTIZI:

**Priorix tetra:** Human endogenous retrovirus K, Avian leukosis virus, HERV-H/env62

**Hexyon:** Fago del tetano, Vettori utilizzati per il clonaggio

**Gardasil 9:** Molluscum contagious virus, Fagi, Murine leukemia virus, Human endogenous retrovirus K, Lievito e i suoi virus

## ICH Topic Q 5 A EMA

Il rischio di contaminazione virale è una caratteristica comune a tutti i prodotti biotecnologici derivati dalle linee cellulari. Tale contaminazione potrebbe avere **gravi conseguenze cliniche** e può derivare dalla contaminazione delle stesse linee cellulari di origine (substrati cellulari) o dall'introduzione accidentale del virus durante la produzione.

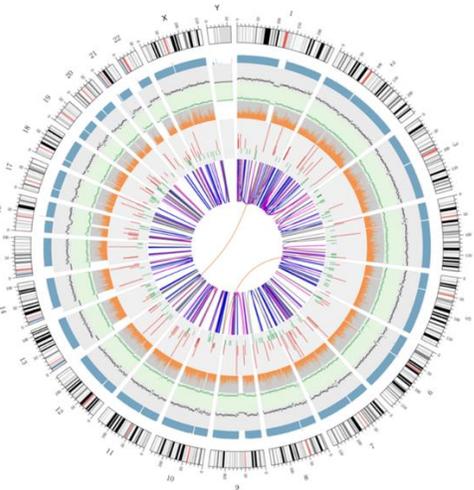
Deve essere dimostrato che qualsiasi virus o particella virale nota per essere presente nel brodo di coltura è stata effettivamente inattivata o rimossa durante il processo a valle

# IMPUREZZE DI MATERIALE BIOLOGICO

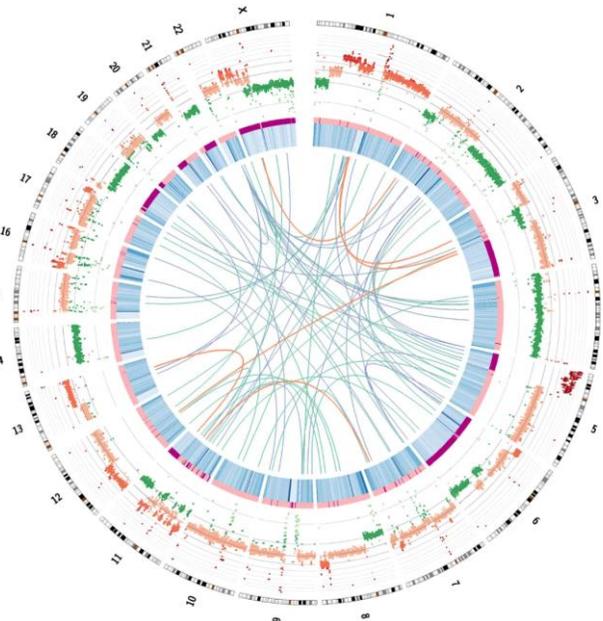
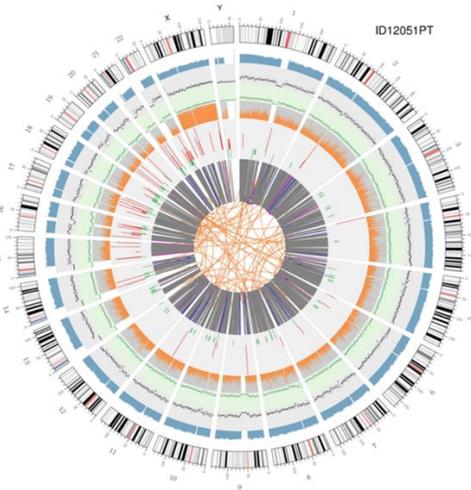
**PRIORIX TETRA:** DNA totale: **1.7-3.7 µg/dose di cui l'80% umano** (DNA/RNA fetale umano proveniente dalla linea cellulare MRC-5). Quantità di DNA tale da renderlo ingrediente principale del vaccino.

Sequenziamento genomico della linea cellulare: riscontrato **genoma individuale completo, altamente modificato dal punto di vista genetico e potenzialmente cancerogeno**

ESEMPIO DI GENOMA 'NORMALE'  
(da sangue umano)



Priorix Tetra lot. A71CB256A, genoma  
umano MRC-5



Comparazione approssimativa tra il **DNA fetale** (a sinistra) e il DNA delle cellule **HeLa** (a destra)

Le traslocazioni delle cellule HeLa rappresentate nel circo plot dalle linee del nucleo, sono riferite all'intero genoma (quindi parte codificante e non codificante), mentre nel caso delle cellule fetali vaccinali sono riferite solo ai geni codificanti

## DEFINIZIONI

**ONCOGENICITÀ:** la capacità di un agente acellulare - come un agente chimico, un virus, un acido nucleico virale, un gene virale o elementi subcellulari - di causare la formazione di tumori nelle cellule normali di un animale.

I tumori che si presentano in un test di tumorigenicità contengono cellule derivate dalle cellule inoculate

**TUMORIGENICITÀ:** la capacità di una popolazione cellulare inoculata in un modello animale di produrre un tumore mediante proliferazione nel sito di inoculazione e / o in un sito distante mediante metastasi

I tumori che si presentano in un test di oncogenicità sono derivati dall'ospite.

## RISPOSTA EMA:

«secondo la Farmacopea Europea, le linee di cellule diploidi MRC-5 non sono tumorigeniche, come dimostrato da decenni di uso e controllo, e pertanto non si applica un limite massimo per il DNA di cellule MRC-5».

- Jacobs JP. Updated results on the karyology of the WI-38, MRC-5 and MRC-9 cell strains. *Developments in Biological Standardization*, 1976, 37:155–156.
- Jacobs JP et al. Guidelines for the acceptability, management and testing of serially propagated human diploid cells for the production of live virus vaccines for use in man. *Journal of Biological Standardization*, 1981, 9:331–342.
- Petriccioni JC et al. Karyology standards for rhesus diploid cell line DBS-FRHL-2. *Journal of Biological Standardization*, 1976, 4:43–49.
- Schollmayer E et al. High resolution analysis and differential condensation in RBA-banded human chromosomes. *Human Genetics*, 1981, 59:187–193.

- Rønne M. Chromosome preparation and high resolution banding techniques: a review. *Journal of Dairy Science*, 1989, 72:1363–1377.

La letteratura di riferimento, per sostenere che le cellule diploidi impiegate per la produzione di vaccini sono sicure dal punto di vista della stabilità genetica, è obsoleta. Già 40 anni fa (1976) erano state riscontrate le prime anomalie genetiche, ritenute trascurabili per la sicurezza dei vaccini, e da quanto riportato nella linea guida OMS da allora non sono più stati fatti aggiornamenti con le nuove tecnologie di sequenziamento, in particolare in NGS, peraltro economica e rapida, con la conseguenza che nei vaccini somministrati **da decenni è stata permessa dalle agenzie la presenza di DNA progressivamente sempre più modificato geneticamente e in quantità non controllata.**

## Dr.ssa T. DEISHER (lettera ai governanti – 8 aprile 2019)

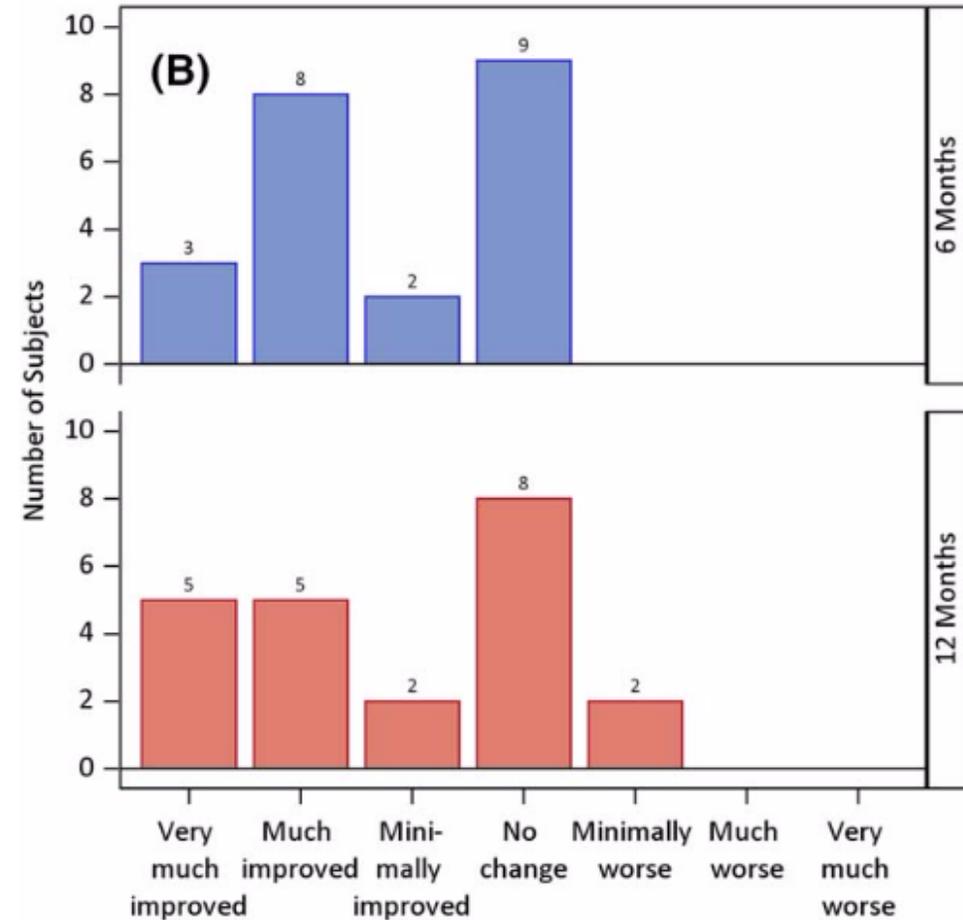
iniettare i nostri bambini con contaminazioni di DNA fetale umano comporta il rischio di causare due patologie consolidate:

- **mutagenesi inserzionale:** il DNA fetale umano si incorpora nel DNA del bambino causando mutazioni. La terapia genica che utilizza la ricombinazione omologa di piccoli frammenti ha dimostrato che quantità tanto piccole quanto 1,9 ng/mL di frammenti di DNA risultano nell'inserzione nel genoma di cellule staminali nel 100% dei topi iniettati. I livelli di frammenti di DNA fetale umano nei nostri bambini dopo la vaccinazione con vaccini MMR, VARIVAX (varicella) o epatite A raggiungono livelli superiori a 1,9 ng / ml.
- **immunopatologia:** il DNA umano fetale stimola la reazione del sistema immunitario ad attaccare il corpo del bambino/della bambina.

# NOT BORN WITH IT

60% showed improvement at 6 months with only a single umbilical cord blood infusion of their own banked cord blood, with no conditioning.

If the mutations in the children's blood occurred during in utero development, then the umbilical cord blood would have those mutations and would not have helped these children.



**Figure 3.** Global Impression Scale (GCI). **(A):** CGI-Severity over time. **(B):** CGI-Improvement over baseline as assessed at 6 and 12 months.

# COULD FETAL MANUFACTURED VACCINES MUTATE HUMAN STEM CELLS?

Not only do primitive human cells take up DNA into the nucleus, the DNA is also readily inserted into the genome.

**Table 2: DNA uptake in Various Cell lines**

	Spontaneous Cellular uptake	Spontaneous Nuclear uptake	Incorporation in Genomic DNA
HFF1	Yes	Yes	Not Done
NCCIT	Yes	Yes (variable)	0.0026pg per cell 24 hrs 0.04pg per cell 48 hrs

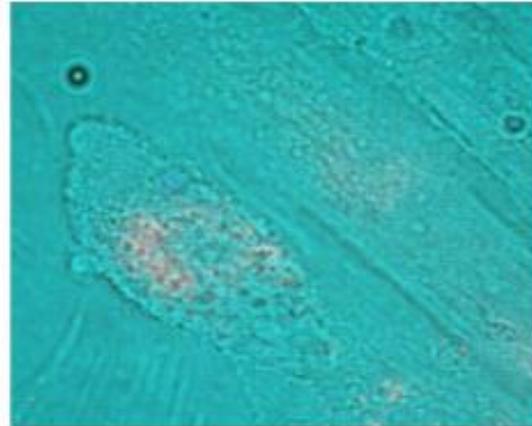


Fig 1. HFF1 spontaneous cellular and nuclear DNA uptake (bright field & Cy3 red combined).

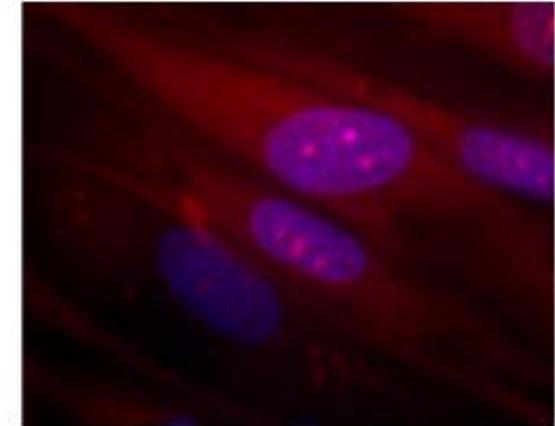


Fig 2. HFF1 cellular and nuclear DNA uptake after permeabilization with saponin. (Cy3 red & nucleus blue combined)

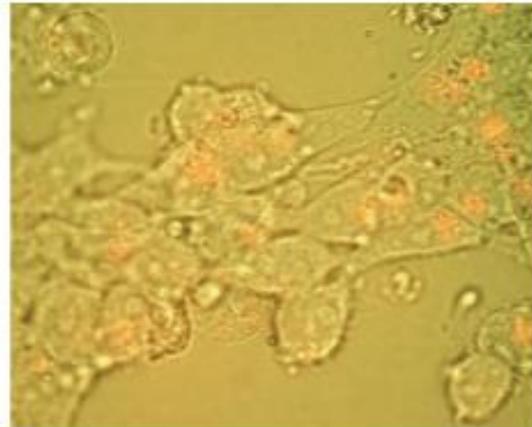


Fig 3. NCCIT spontaneous cellular DNA uptake (bright field & Cy3 red combined)

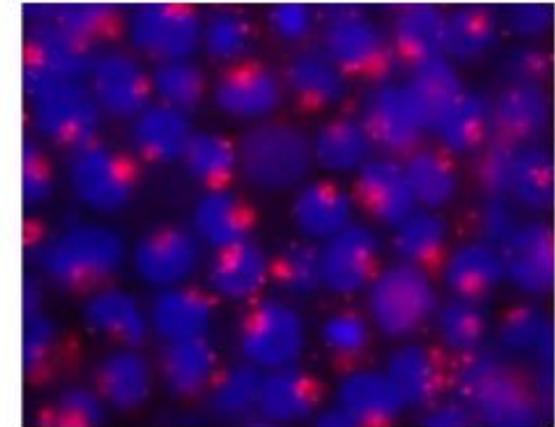
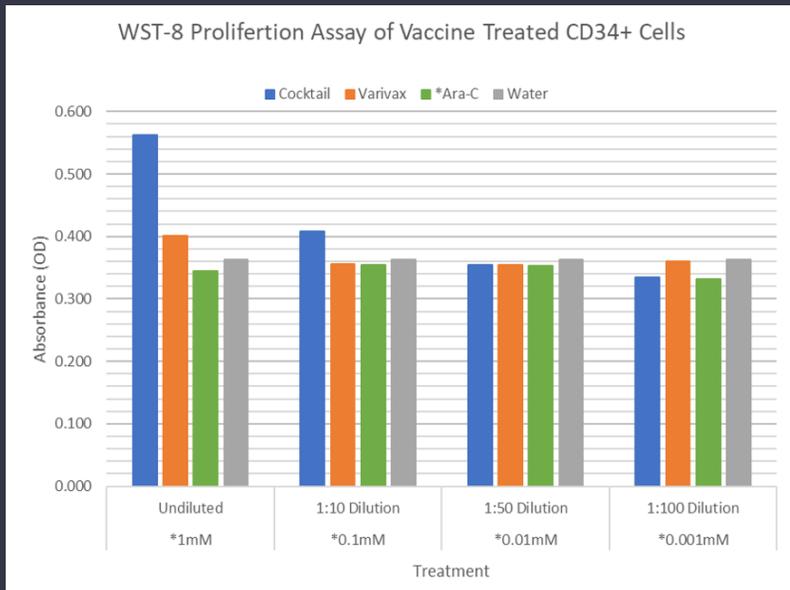


Fig 4. NCCIT cellular DNA uptake after lipopolysaccharide activation (Cy3 red & nucleus blue combined)

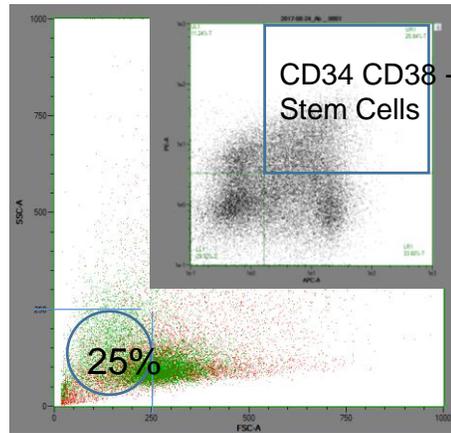
# COULD FETAL MANUFACTURED VACCINES MUTATE HUMAN STEM CELLS?

**7 days after vaccine addition,  
undiluted vaccine cocktail treated  
wells have higher metabolic activity**



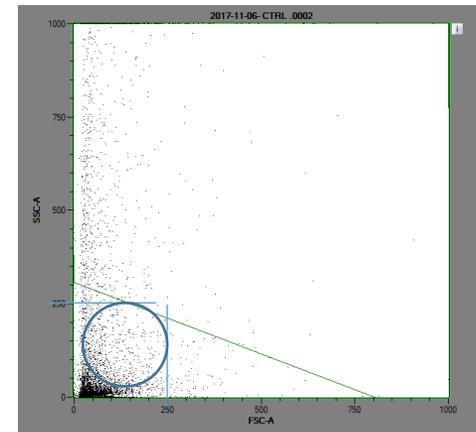
**Human stem cells do not survive in culture  
without supplements unless a mutation event occurs.**

**Starting Stem Cells**

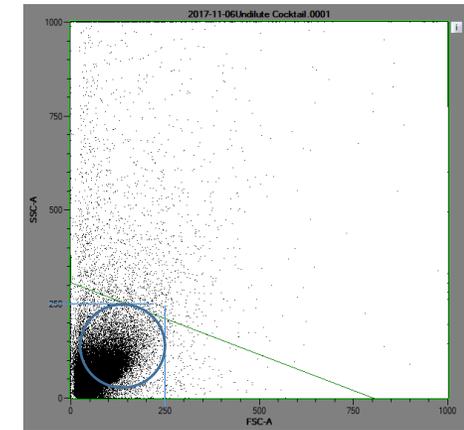


19

**Day 80, stem cells  
die off**



**Day 80, Vaccines &  
stem cells**



# COULD FETAL MANUFACTURED VACCINES MUTATE HUMAN STEM CELLS?

**Immune reactivation by cell-free fetal DNA in healthy pregnancies repurposed to target tumors: novel checkpoint inhibition in cancer therapeutics**

*E. Enniga et al Front. Immunol., 26 August 2015*

**Dysregulation of TLR9 in neonates leads to fatal inflammatory disease driven by IFN- $\gamma$**

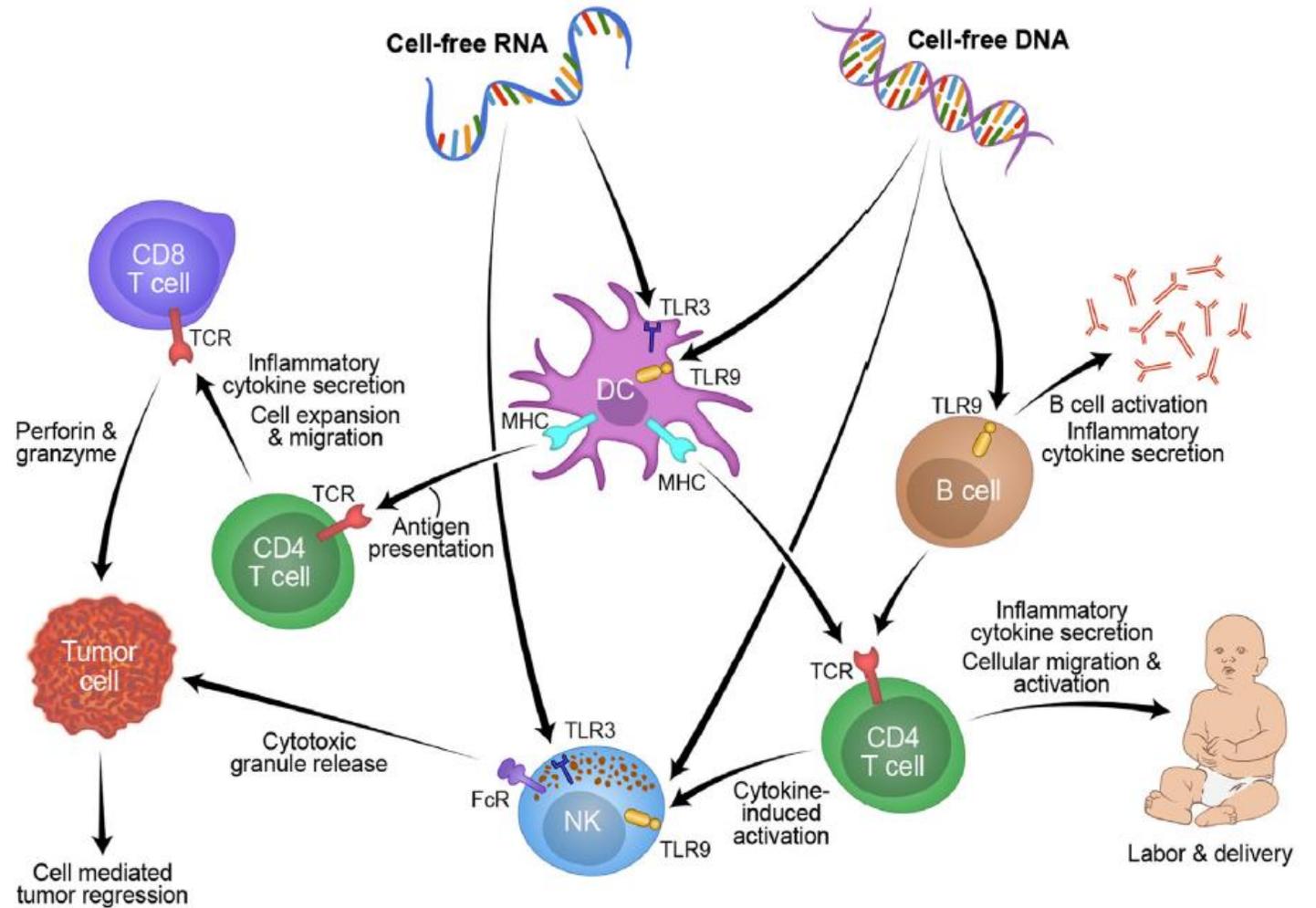
*Alison G. et al*

*PNAS February 11, 2020 117 (6) 3074-3082*

**The Role of Toll-Like Receptors in Autoimmune Diseases through Failure of the Self-Recognition Mechanism.**

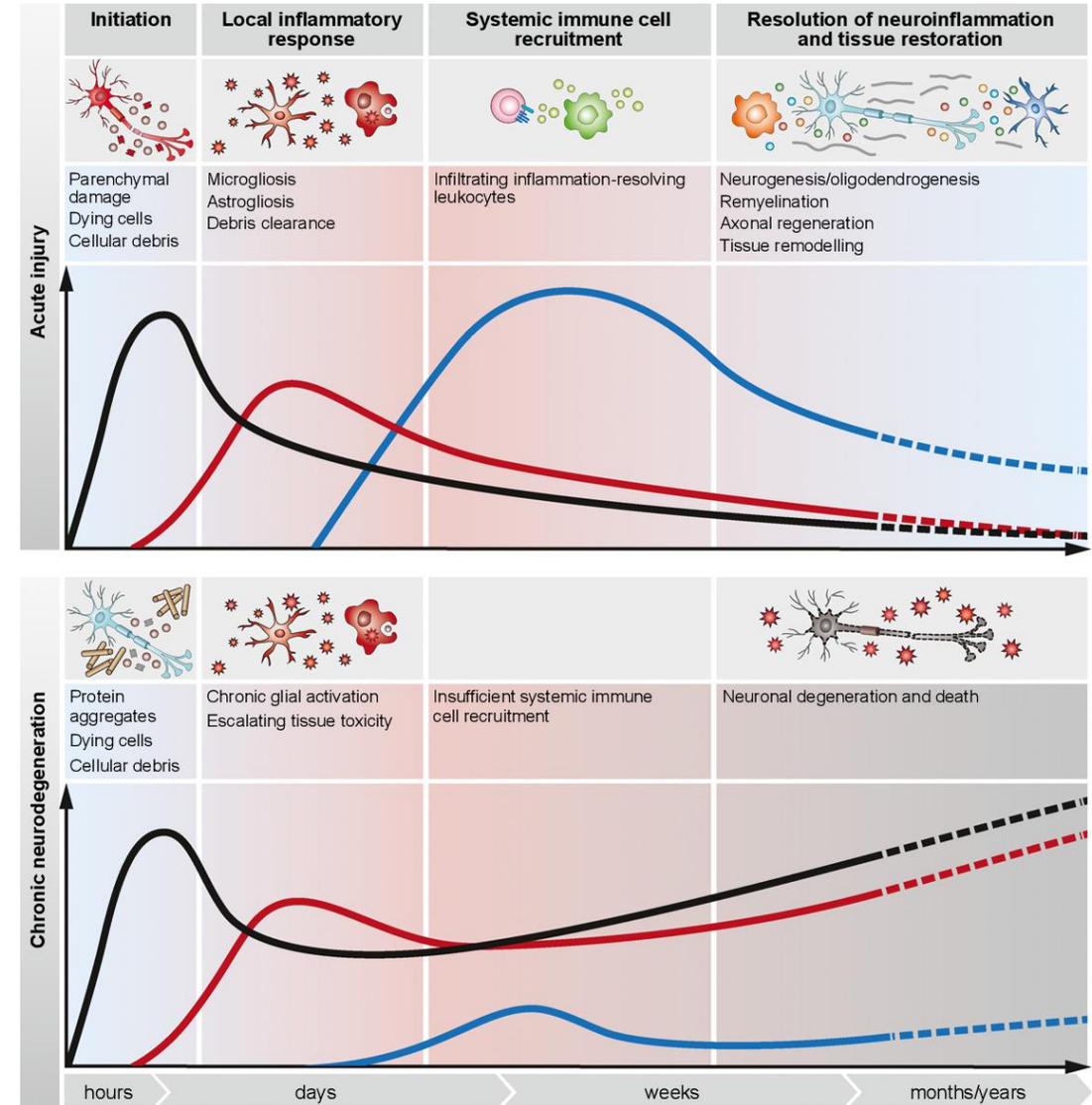
*Farrugia M, Baron B.*

*Int J Inflamm. 2017;2017:8391230*



## Risposta locale e sistemica delle cellule immunitarie al danno acuto o cronico del SNC.

In situazioni neuroinfiammatorie, sia acute (parte superiore) che croniche (parte inferiore), il danno parenchimale del SNC (linea nera) porta **all'attivazione delle cellule gliali e alla risposta infiammatoria locale (linea rossa)**. In risposta al danno acuto del sistema nervoso centrale, **i leucociti circolanti vengono reclutati nel sistema nervoso centrale (linea blu) e partecipano alla risoluzione della risposta infiammatoria innata**. Quando tale risposta non viene risolta, può portare a neuroinfiammazione cronica, associata a tossicità crescente e morte neuronale, come nel caso delle malattie neurodegenerative croniche; la mancanza di risoluzione riflette il reclutamento insufficiente di cellule immunitarie che risolvono l'infiammazione sistemica nel sistema nervoso centrale.



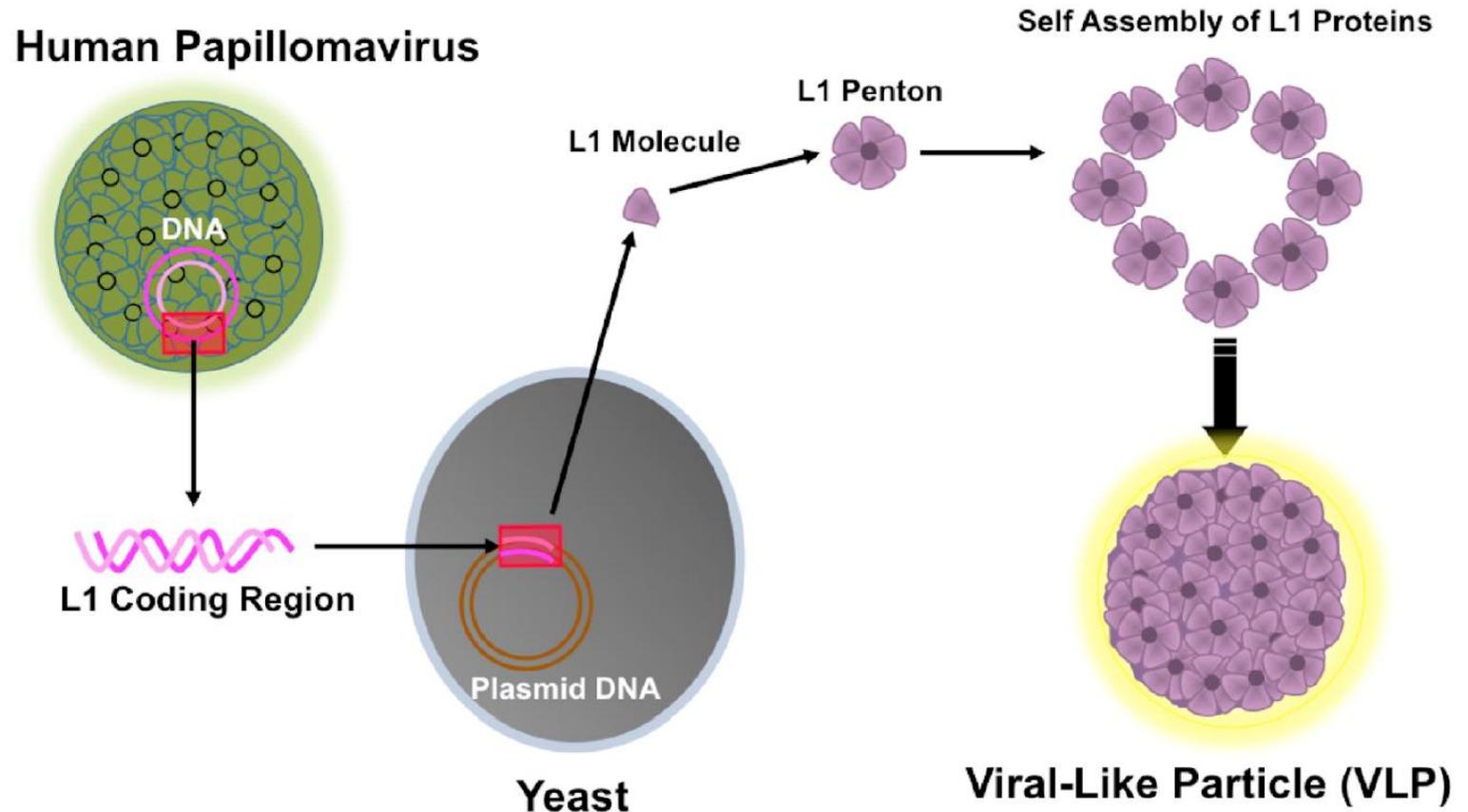
# IMPUREZZE DI MATERIALE BIOLOGICO

**GARDASIL 9:** Frammenti L1 del genoma del papilloma virus. Sono stati sequenziati i frammenti L1 18, 16, 6.

Le implicazioni legate alla presenza di questi frammenti sono quelle già riportate dal prof. Lee nelle sue pubblicazioni, e cioè che la presenza dell'alluminio ne stabilizza la degradazione, potenziando la capacità di attivare una potente risposta infiammatoria a lungo termine e di essere trasportati attraverso il sistema linfatico nei macrofagi in vari distretti dell'organismo.

**RISPOSTA FDA: 21.10.2011**

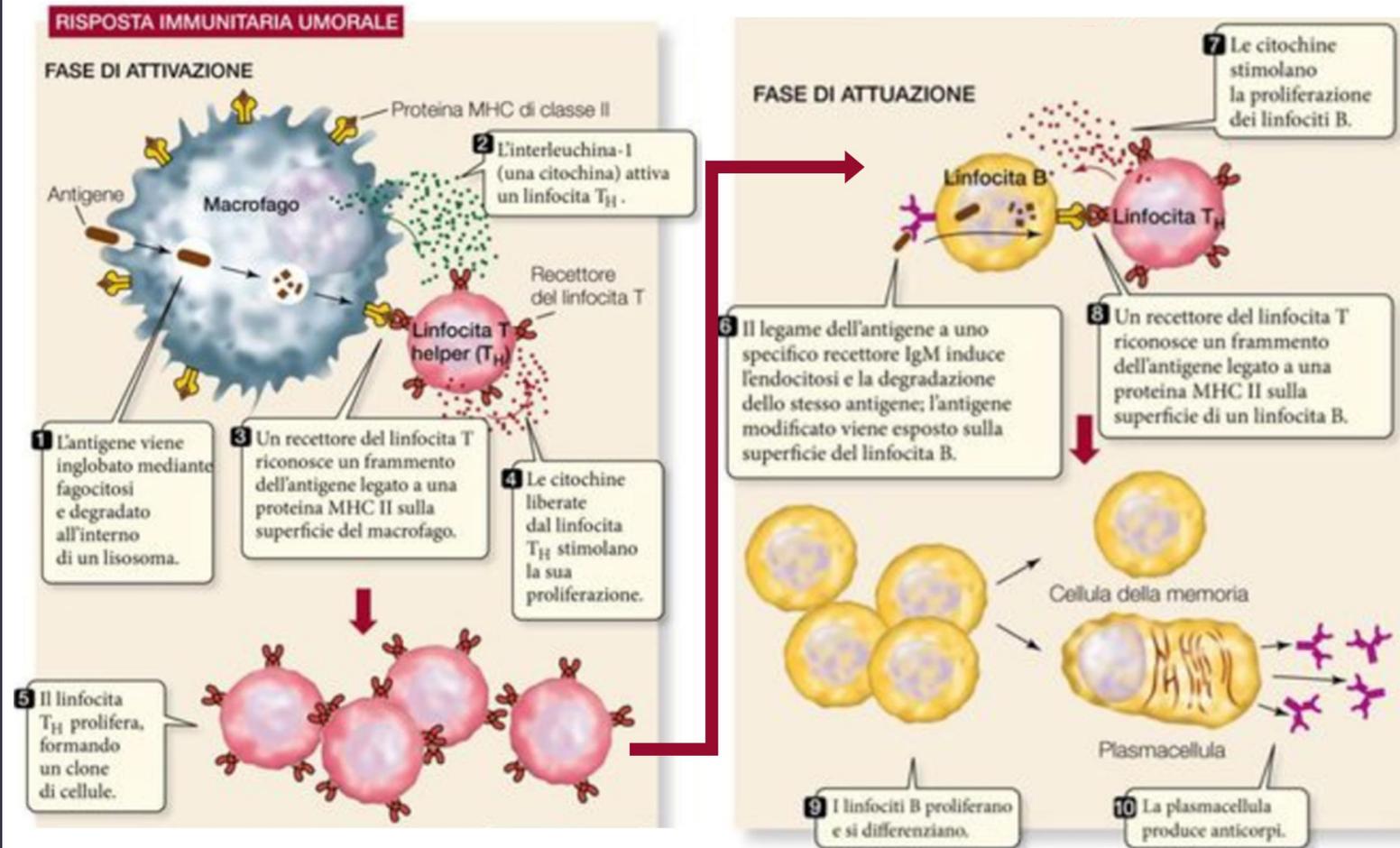
«La presenza di questi frammenti di DNA è prevista, non rappresenta un rischio per i destinatari del vaccino e non costituisce un fattore di sicurezza»



# EFFICACIA

Nei vaccini contenenti alluminio adiuvante si è notata la presenza di aggregati insolubili e indigeribili, in particolare in Infanrix hexa. Poiché gli antigeni per poter stimolare la produzione di anticorpi specifici devono essere digeriti dai macrofagi, **questo pone un problema di efficacia.**

**Problema di sicurezza:** questi aggregati potrebbero essere trasportati con l'alluminio attraverso il sistema linfatico in diversi distretti dell'organismo



# EFFICACIA

Nel genoma della **parotite vaccinale** sono state individuate **40 varianti minori** rispetto al genoma di riferimento utilizzato per l'analisi (genoma vaccinale Jeryl-Lynn), la maggior parte localizzate nel gene-NP (proteina del nucleocapside) e aventi impatto basso sulla proteina (varianti sinonime, cioè che non portano ad un cambio amminoacidico) o moderato (varianti 'missense' cioè che portano ad un cambio amminoacidico, ovvero a mutazioni non sinonime) nella proteina codificata. Dal confronto tra le varianti minori della parotite trovate nei due lotti emergono **4 differenze**

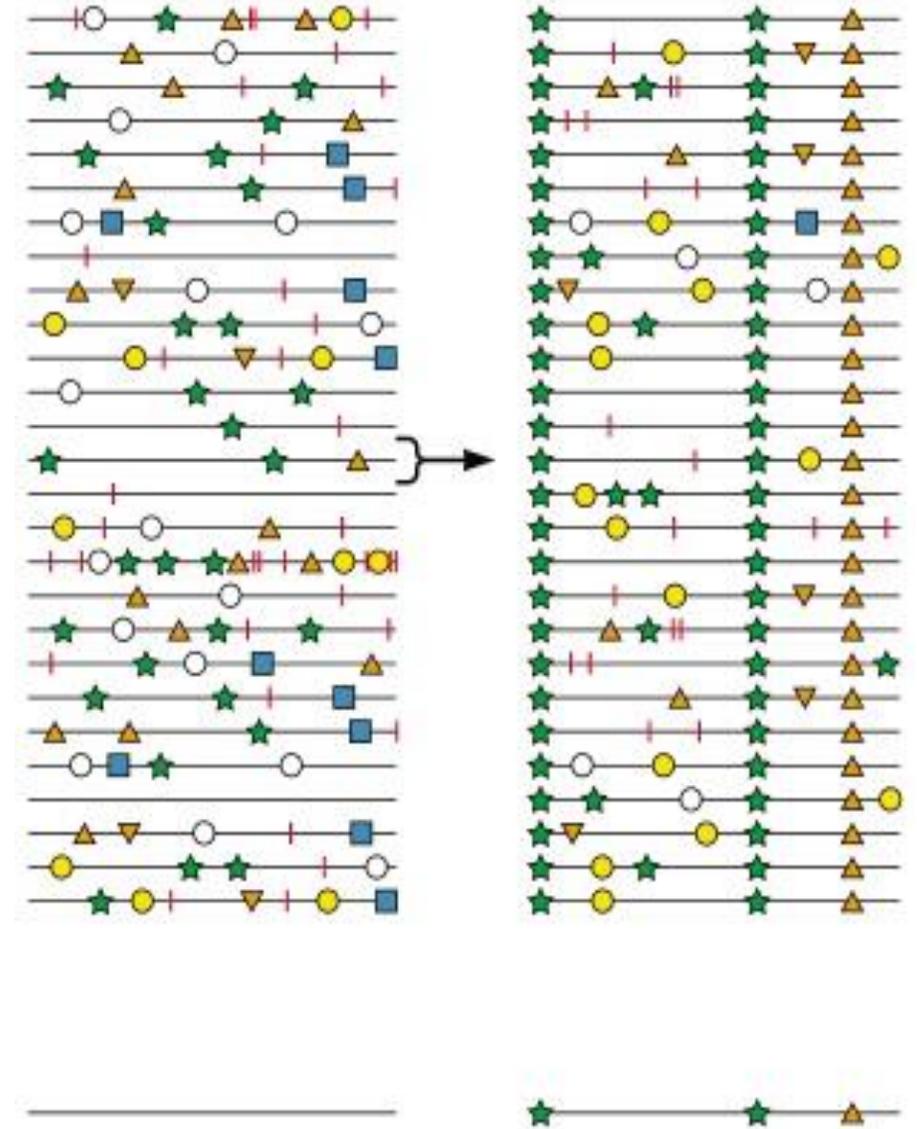
Nel genoma della **varicella vaccinale** sono state individuate 245 varianti rispetto al genoma di riferimento utilizzato per l'analisi (genoma selvatico del ceppo Dumas). Di queste varianti, 154 sono varianti 'maggiori' rispetto al virus selvatico supportate dalla totalità delle sequenze che coprono il sito polimorfico, mentre le restati 91 sono varianti minori

## RISPOSTA EMA

modificazioni nella sequenza genomica di un virus non necessariamente hanno un impatto sulle determinanti antigeniche necessarie per stimolare la risposta immunitaria desiderata nell'uomo

**efficacia:** vaccino-resistenza

**sicurezza:** reversione della virulenza e maggiori complicazioni dall'infezione



Risultati Analisi	Infanrix hexa	Hexyon	Priorix tetra	Gardasil 9
<b>Antigeni</b>	<p>Non sono stati identificati gli antigeni proteici (nessuno di essi).</p> <p>Presenza di una macromolecola insolubile e indigeribile che non è stato possibile sequenziare.</p> <p>Analisi MALDI-TOF della macromolecola: non è stato possibile studiarla perché ha inglobato la matrice dell'analisi.</p> <p>Comportamento "prionico"? da approfondire in futuro.</p>	<p>Sono stati identificati e sequenziati solo 3 antigeni proteici su 6. (sono stati identificati i tossoidi del tetano, difterite e pertosse)</p> <p>Comportamento "prionico"? (gli antigeni si aggregano e precipitano nel tempo diventando insolubili): da approfondire in futuro.</p>	<p>Sono stati identificati (e sequenziati) solo 3 dei 4 virus attenuati: la rosolia è stata rilevata in bassissimo numero di copie (insufficiente).</p> <p>Dal sequenziamento: i virus della varicella, parotite e morbillo presentano delle mutazioni che rendono dubbia l'efficacia del vaccino. (quasi-specie)</p>	<p>Sono stati identificati solo 7 dei 9 antigeni proteici. (mancano i ceppi 11 e 58)</p> <p>Comportamento "prionico"? (gli antigeni si aggregano e precipitano nel tempo diventando insolubili): da approfondire in futuro.</p>
<b>Contaminanti chimici candidati (segnali)</b>	65 (35% noto) PEG, acido formico	216 (30% noto)	115-173 (29-43% noti)	338 (22% noti) Identificazione di APDB (amfetamina illegale) già notificata ai NAS in data 23 maggio 2019
<b>Tossine chimiche candidate</b>	8	16	no	10
<b>Contaminanti proteici</b>	no	no	Sarcoplasmin calcium-binding protein, Actina e Vimentina	no
<b>Contaminanti peptidici liberi</b>	16	no	no	no
<b>Metalli *</b>	Alluminio pari a 723,5 µg ± 130 µg / dose Altri metalli sotto i 5g/dose	Alluminio pari 546 µg ± 98.5 µg / dose Altri metalli sotto i 5g/dose	Alluminio pari a 0.8 µg ± 0.15 µg / dose Altri metalli sotto i 5g/dose	Alluminio pari a 416 µg ± 75 µg / dose Altri metalli sotto i 5g/dose

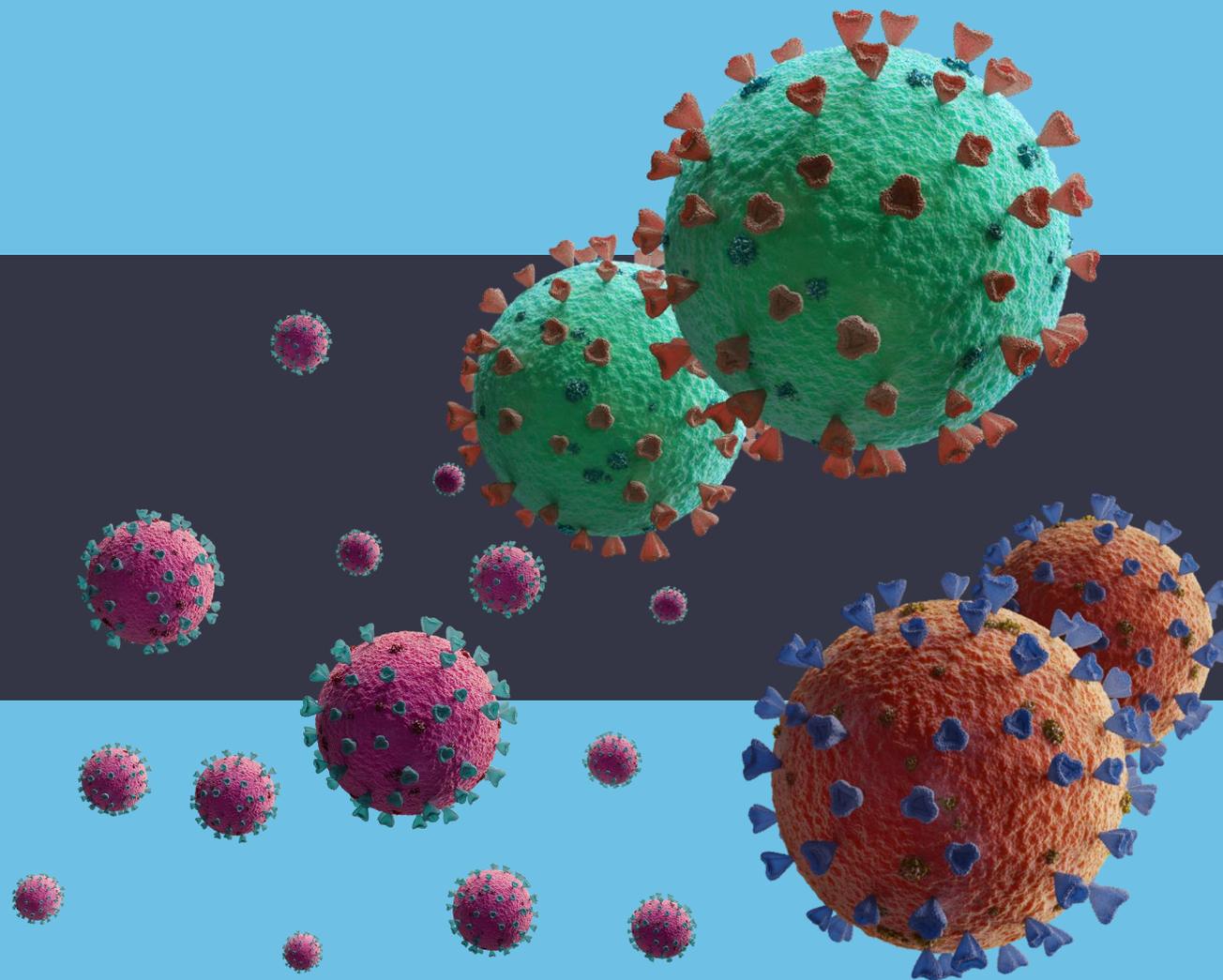
\*Alluminio, Afnio, Antimonio, Arsenico, Bario, Bismuto, Cadmio, Cromo, Gallio, Indio, Iridio, Ittrio, Lantanio, Mercurio, Nichel, Palladio, Piombo, Platino, Rame, Rodio, Rutenio, Scandio, Stagno, Stronzio, Tantalio, Tallio, Tungsteno, Vanadio

Risultati Analisi	Infanrix hexa	Hexyon	Priorix tetra	Gardasil 9
<b>DNA/RNA residuale Proveniente dalle cellule di coltura</b>	<p>Sotto i limiti di rilevabilità dello strumento con metodi fluorimetrici standard (limite di sensibilità 0.1 ng/μl)</p> <p>DNA di Scimmia 4.69% (sensibilità kit libreria DNA-seq 10 pg)</p>	<p>DNA 6.88 ng; RNA 100.8 ng DNA e RNA proveniente dalle colture batteriche. DNA/RNA di scimmia (cellule Vero) e da primati.</p> <p>Poliovirus 1 e 2</p> <p>N.B.: Il materiale riscontrato era in tracce e degradato.</p>	<p>DNA totale: 1.7-3.7 μg/dose di cui l'80% umano (DNA/RNA fetale umano proveniente dalla linea cellulare MRC-5).</p> <p>Quantità di DNA tale da renderlo ingrediente principale del vaccino.</p> <p>Sequenziamento genomico della linea cellulare: riscontrato genoma individuale completo, altamente modificato dal punto di vista genetico e potenzialmente cancerogeno</p> <p>Altro DNA: di pollo</p>	<p>DNA Sotto i limiti di rilevabilità dello strumento con metodi fluorimetrici standard (limite di sensibilità 0.1 ng/μl)</p> <p>DNA umano e di topo (in tracce)</p> <p>RNA 8.732 ng</p>
<b>Virus avventizi</b>	no	<p>Fago del tetano</p> <p>Vettori utilizzati per il clonaggio</p>	<p>Human endogenous retrovirus K</p> <p>Avian leukosis virus</p> <p>HERV-H/env62</p>	<p>Molluscum contagious virus (Myoviridae)</p> <p>Fagi</p> <p>Retrovirus (DNA): Murine leukemia virus Human endogenous retrovirus K</p> <p>Retrovirus (RNA): Murine leukemia virus</p>
<b>Altri contaminanti microbici</b>	no	no	no	Lievito e i suoi virus
<b>Residui di lavorazione di materiale genetico</b>	no	no	no	<p>DNA: Frammenti L1 (manca il ceppo 58; presenza ceppo 20)</p> <p>Sono stati sequenziati i frammenti L1 18, 16, 6 (RNA)</p>



FEDERAZIONE  
RINASCIMENTO  
ITALIA

# L'INFEZIONE DA SARS-COV-2

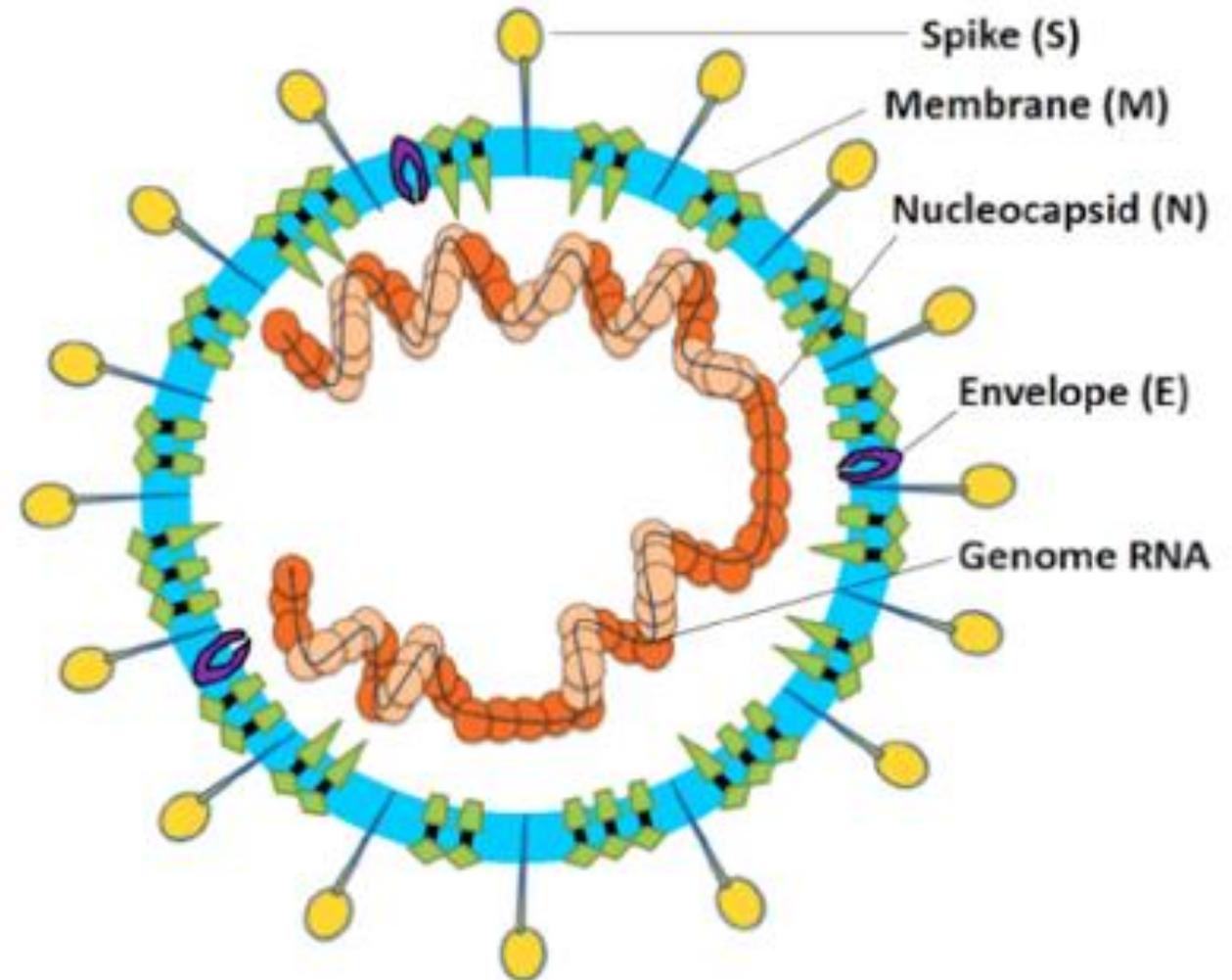


# IL VIRUS SARS-COV-2

## SINDROME RESPIRATORIA ACUTA GRAVE DA CORONAVIRUS 2

Il SARS-Cov-2 è un beta-coronavirus costituito da un filamento singolo di RNA con un involucro lipidico che contiene quattro componenti proteiche strutturali, di cui la più importante è la **proteina S (Spike)**

Questa proteina determina il tropismo del virus e la sua patogenicità, in quanto contiene il sito di legame per il **recettore dell'enzima di conversione dell'angiotensina 2 (ACE2)** che ne facilita l'ingresso nelle cellule che lo esprimono (in particolare le cellule dell'intestino) e costituisce il bersaglio degli anticorpi sia prodotti in seguito all'infezione naturale che alla vaccinazione.



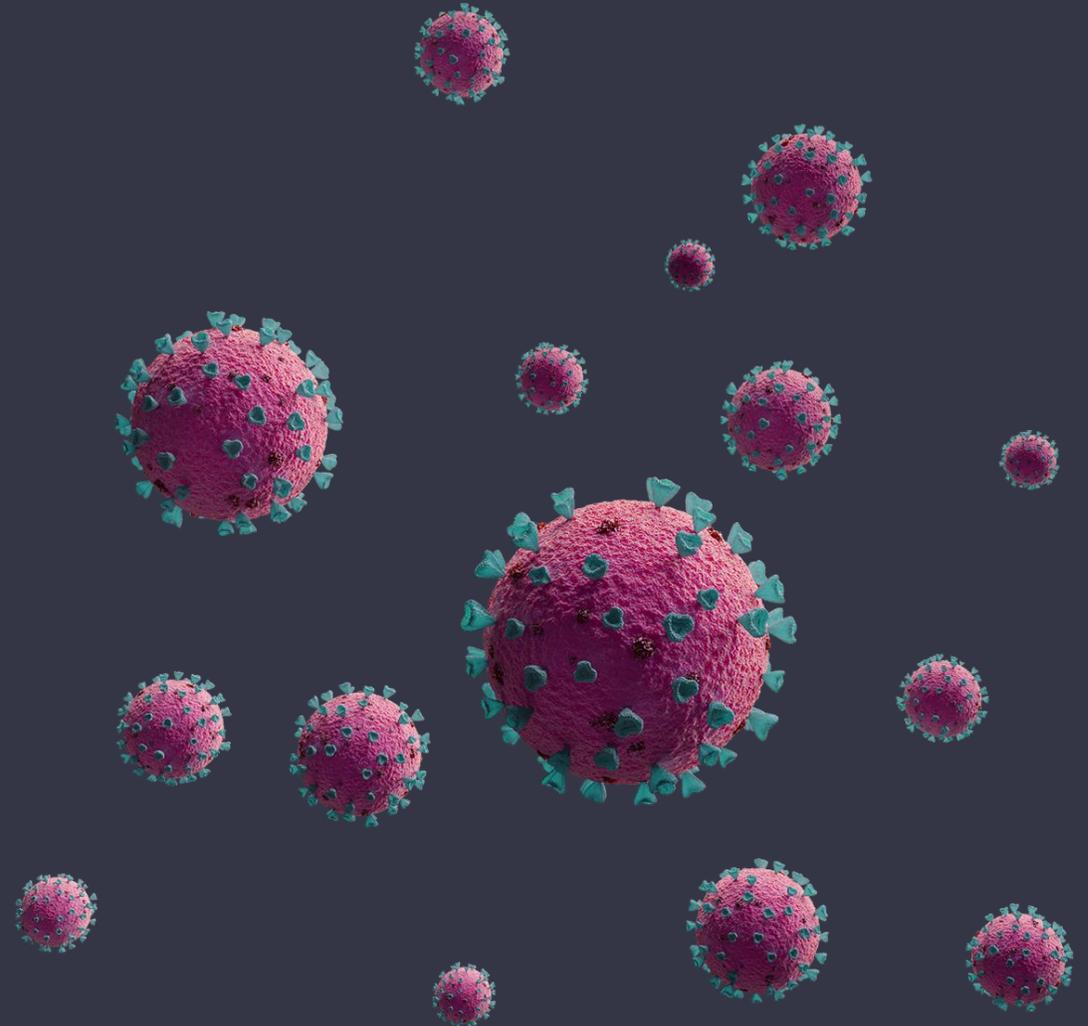
# FASI DELL'INFEZIONE

COVID-19 (CORONAVIRUS DISEASE 19)

## ENTRATA DEL VIRUS

**l'inizio della replicazione virale può causare la morte delle cellule infettate, perdite vascolari e rilascio di mediatori pro-infiammatori con l'attivazione di una **prima ondata di mediatori dell'infiammazione****

*A seconda dell'intensità di questa prima risposta infiammatoria l'infezione può essere asintomatica o sintomatica.*



# FASI DELL'INFEZIONE

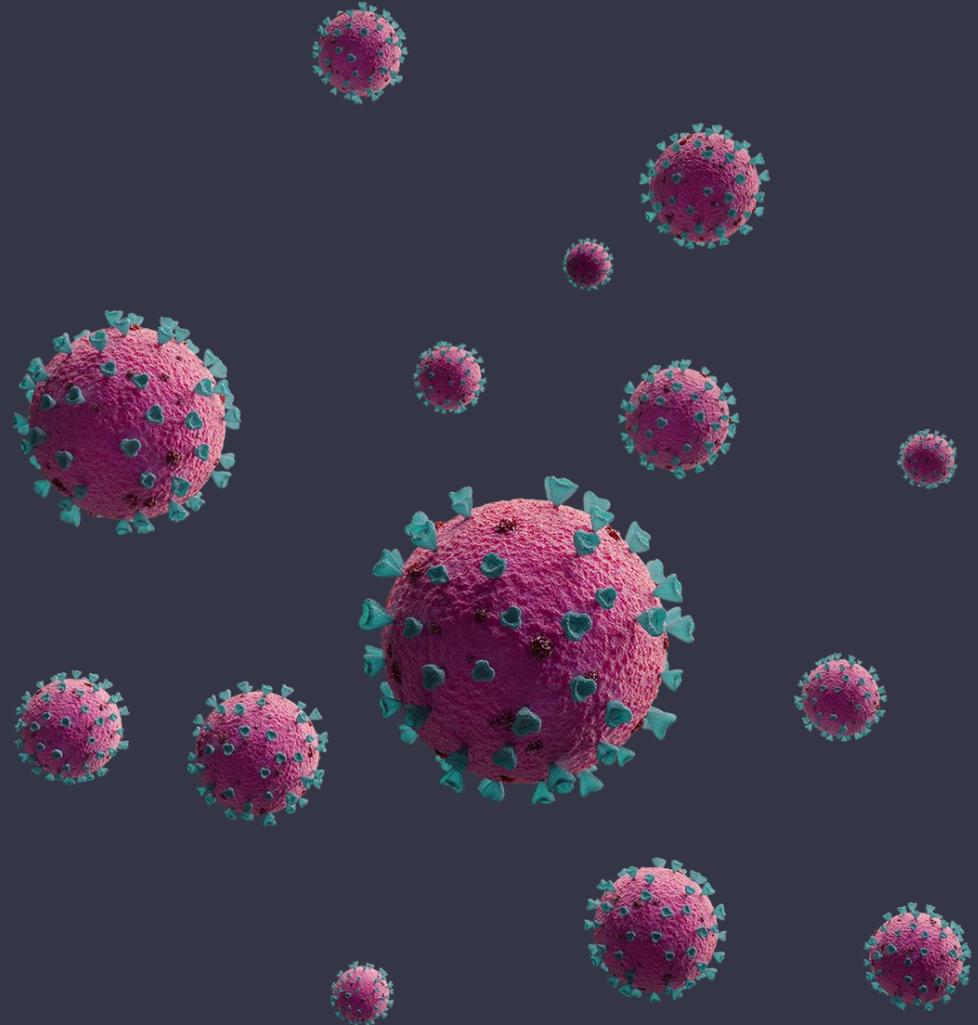
COVID-19 (CORONAVIRUS DISEASE 19)

## FASE SINTOMATICA DELL'INFEZIONE VIRALE

l'infezione da SARS-CoV-2 determina una **risposta antivirale inferiore** caratterizzata da bassi livelli di Interferone-I (IFN-I) e IFN-III e da **un'iperinfiammazione** dovuta all'elevata espressione di mediatori dell'infiammazione e di IL-6

In questa fase può manifestarsi **l'immunosoppressione** e la **linfopenia**

*in una parte di individui infetti, il SARS-CoV2 elude il riconoscimento da parte del sistema immunitario attraverso la soppressione dei meccanismi antivirali, favorendo la complicazione della malattia*



# FASI DELL'INFEZIONE

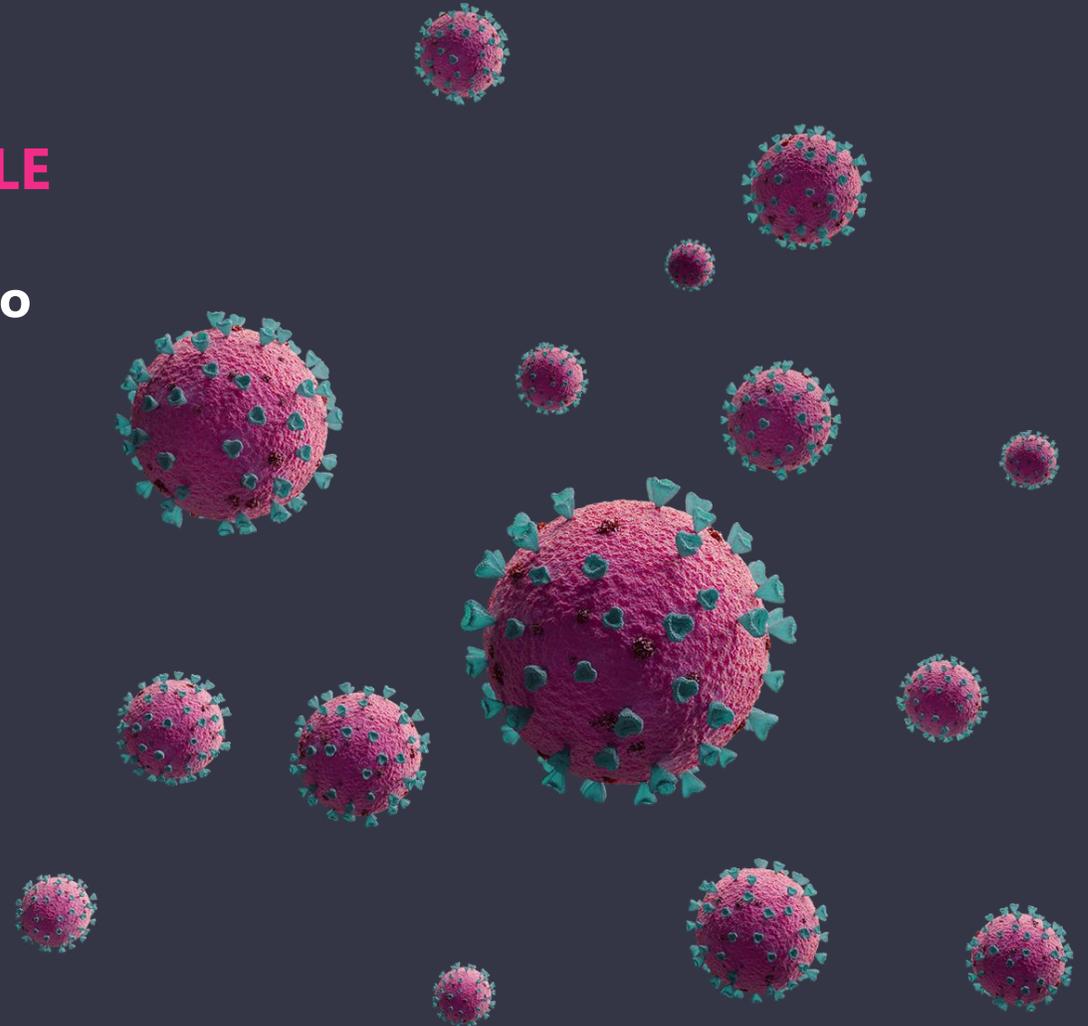
COVID-19 (CORONAVIRUS DISEASE 19)

## FASE SINTOMATICA DELL'INFEZIONE VIRALE

i sintomi sono simili a quelli influenzali e durano circa **7-10 giorni**.

Il sistema immunitario innato reagisce per bloccare la replicazione del virus.

*Se la persona ha una risposta immunitaria efficiente l'infezione si risolve senza complicazioni.*



# FASI DELL'INFEZIONE

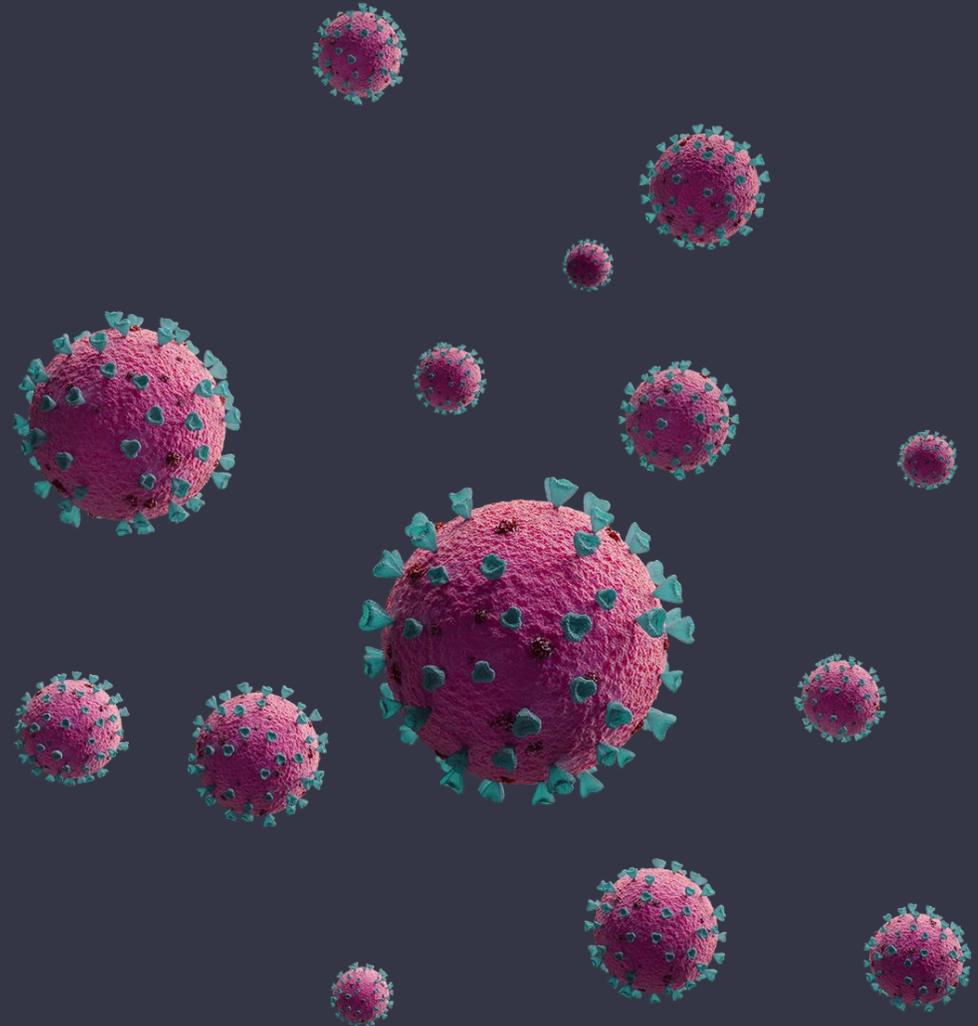
COVID-19 (CORONAVIRUS DISEASE 19)

## FASE SINTOMATICA DELL'INFEZIONE VIRALE

l'infezione da SARS-CoV-2 determina una **risposta antivirale inferiore** caratterizzata da bassi livelli di Interferone-I (IFN-I) e IFN-III e da **un'iperinfiammazione** dovuta all'elevata espressione di mediatori dell'infiammazione e di IL-6

In questa fase può manifestarsi **l'immunosoppressione** e la **linfopenia**

*in una parte di individui infetti, il SARS-CoV2 elude il riconoscimento da parte del sistema immunitario attraverso la soppressione dei meccanismi antivirali, favorendo la complicazione della malattia*



# FASI DELL'INFEZIONE

COVID-19 (CORONAVIRUS DISEASE 19)

## COMPLICAZIONE DELL'INFEZIONE

Comparsa dei sintomi polmonari. Il sistema immunitario **reagisce in maniera esagerata** all'infezione non contenuta durante la prima fase con la produzione di alte quantità di mediatori dell'infiammazione.

La coagulazione intravascolare disseminata è una delle patologie che portano a morte il paziente se non trattato opportunamente nella fase iniziale.

*Se non si interviene farmacologicamente, la complicazione può progredire rapidamente alla fase più grave, con il danno multiorgano.*

*\* solo il 30-50% circa dei pazienti è febbrile al momento del ricovero*



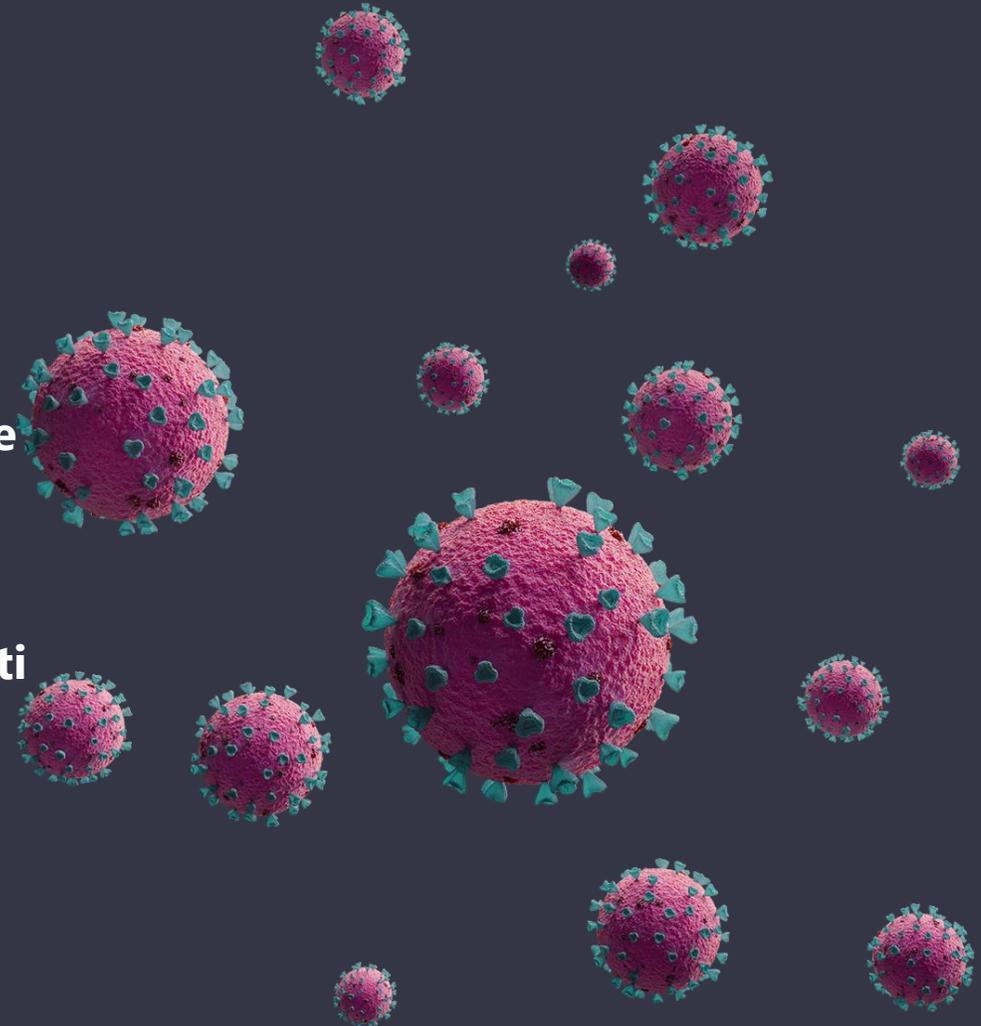
# FASI DELL'INFEZIONE

COVID-19 (CORONAVIRUS DISEASE 19)

## FASE MOLTO SEVERA/FATALE

Quando le cellule immunitarie adattative (i linfociti T svolgono un ruolo centrale in questa fase) si attivano, innescano una **"seconda ondata" di infiammazione** (sindrome da tempesta di citochine e i suoi sottotipi), che si può riscontrare nei pazienti COVID-19 che hanno un deterioramento rapido dopo 7-10 giorni di infezione, correlato con un aumento dei livelli di marcatori della fase acuta (ESR, CRP, ferritina), coagulopatia (titoli elevati di D-dimeri, coagulazione intravascolare disseminata) e lisi cellulare (CK, LDH)

*Le manifestazioni del danno multiorgano sono legate all'attacco delle strutture dell'organismo da parte del sistema immunitario.*



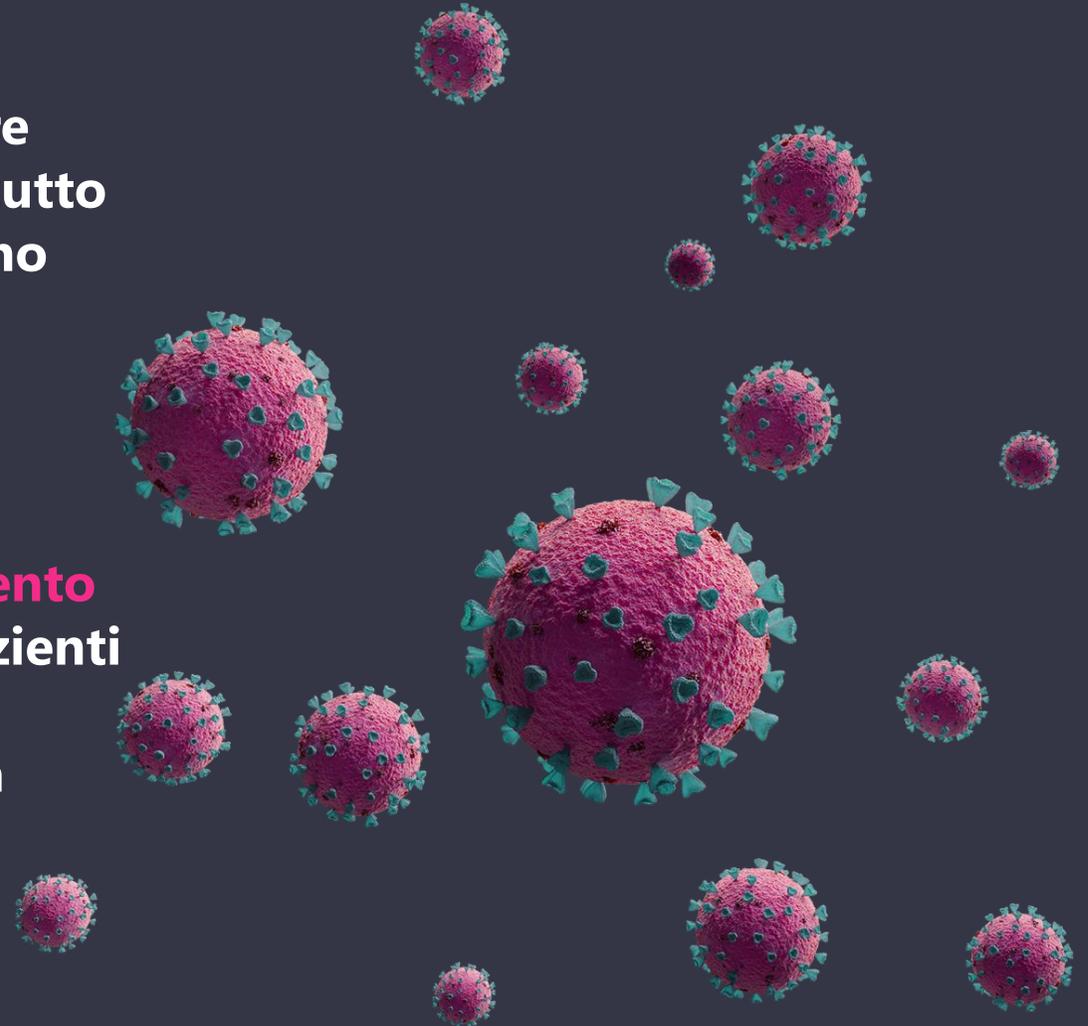
# FASI DELL'INFEZIONE

COVID-19 (CORONAVIRUS DISEASE 19)

Durante la complicazione la persona può andare incontro a **coinfezioni di tipo batterico** (soprattutto ospedaliere antibiotico-resistenti) che aggravano ulteriormente il quadro clinico.

## FASE POST-INFETTIVA

L'esistenza di autoanticorpi suggerisce un **aumento del rischio di malattie autoimmuni** in alcuni pazienti con COVID-19 e sono senz'altro raccomandati ulteriori studi in gruppi più ampi di pazienti e a lungo termine per chiarire queste osservazioni.

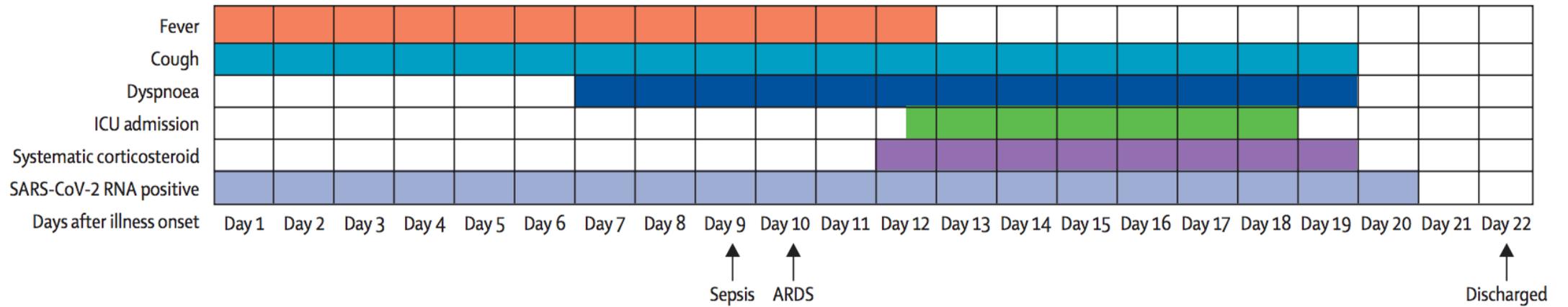


# FASI DELL'INFEZIONE

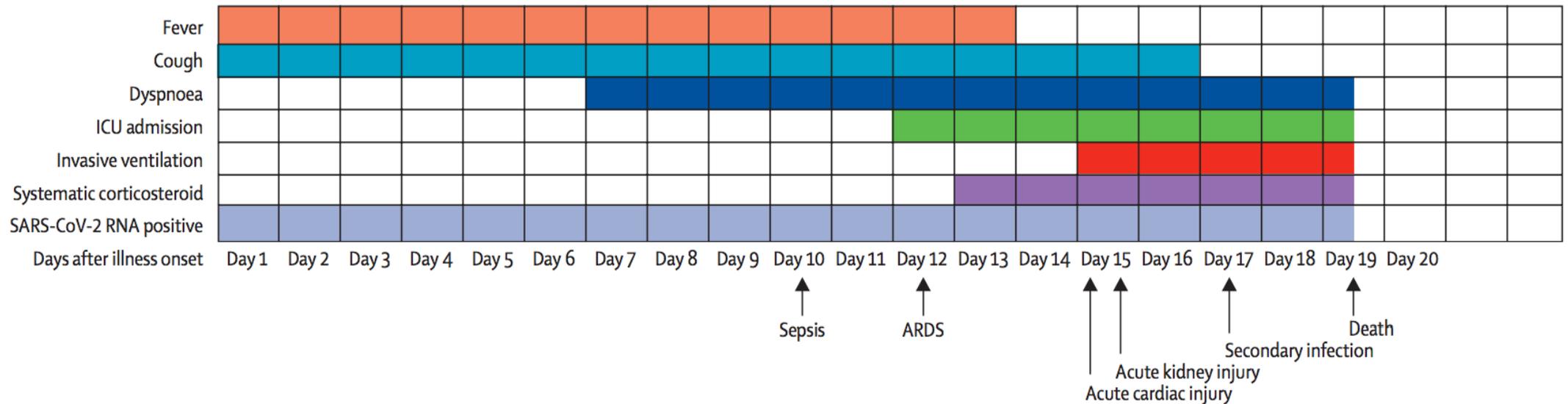
## COVID-19 (CORONAVIRUS DISEASE 19)



### Survivors

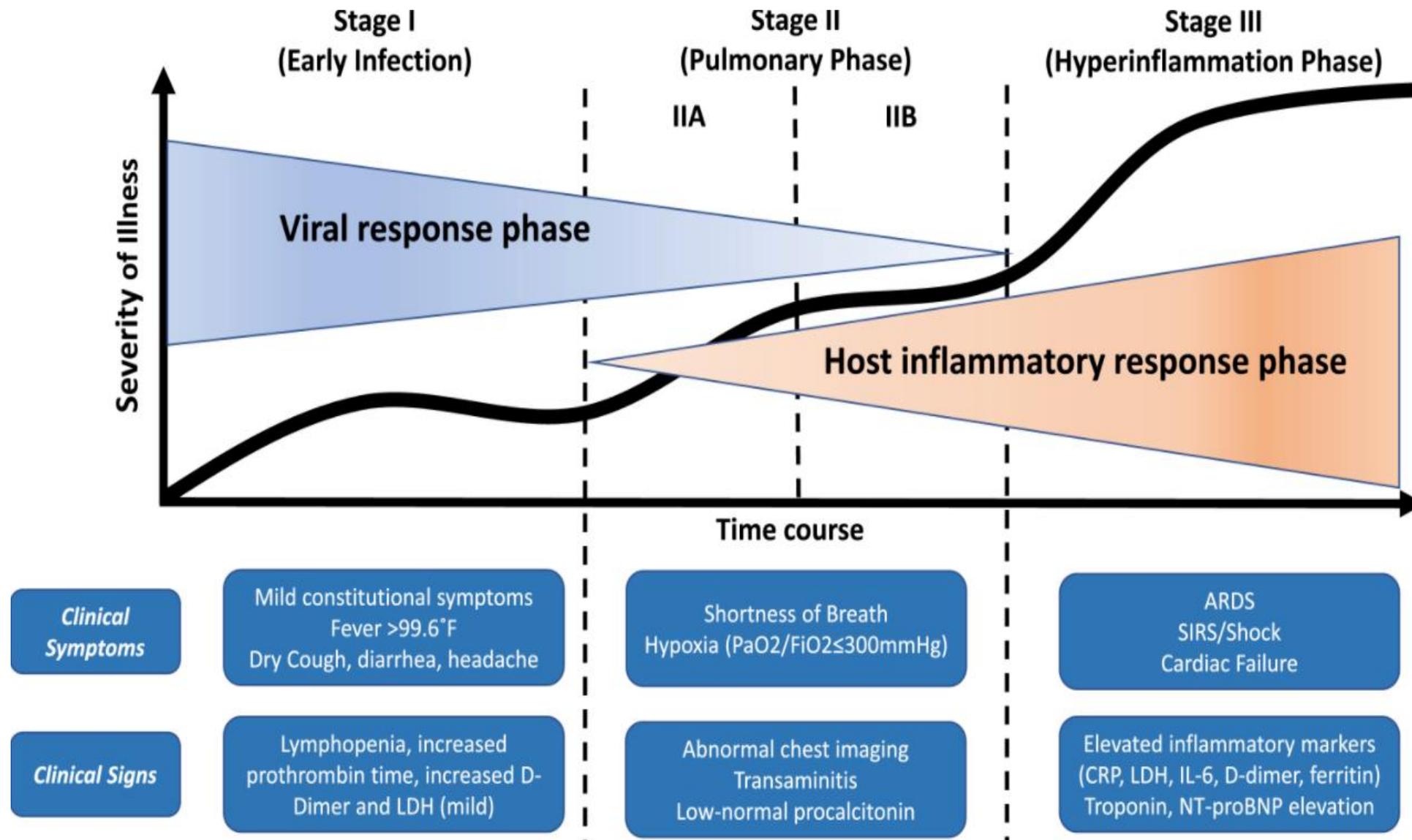


### Non-survivors



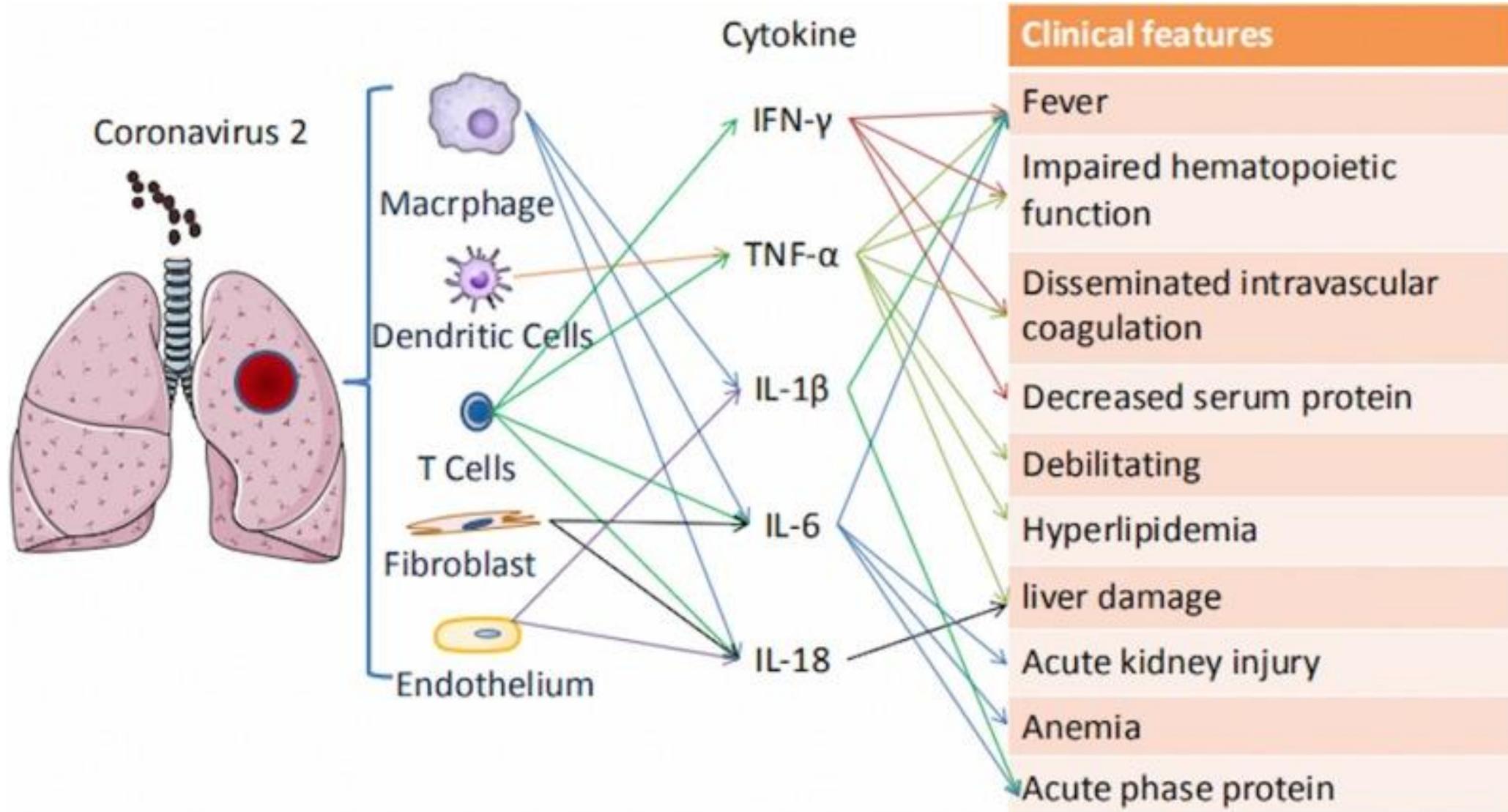
# FASI DELL'INFEZIONE

COVID-19 (CORONAVIRUS DISEASE 19)



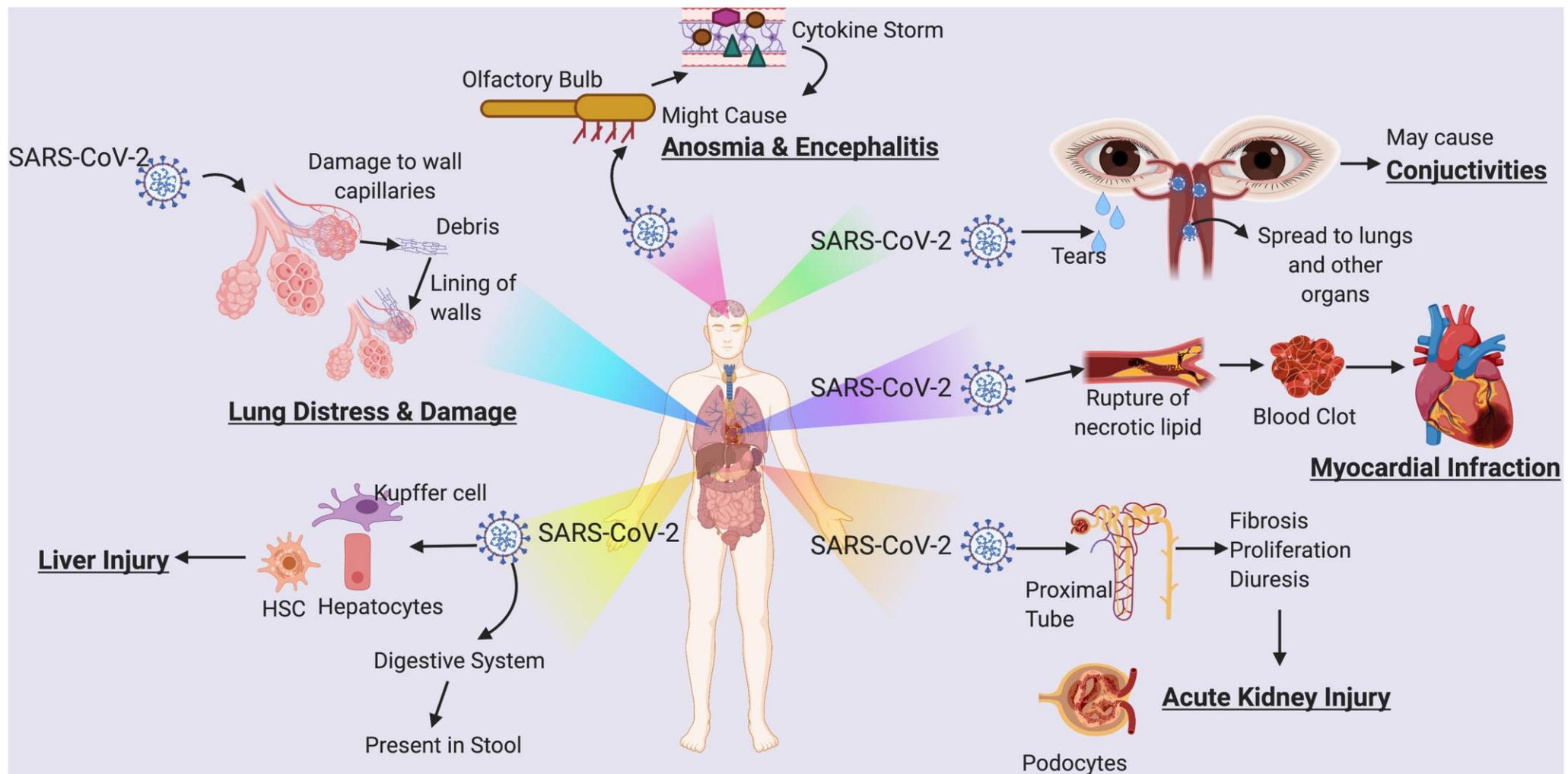
# FASI DELL'INFEZIONE

## COVID-19 (CORONAVIRUS DISEASE 19)



# FASI DELL'INFEZIONE

## COVID-19 (CORONAVIRUS DISEASE 19)

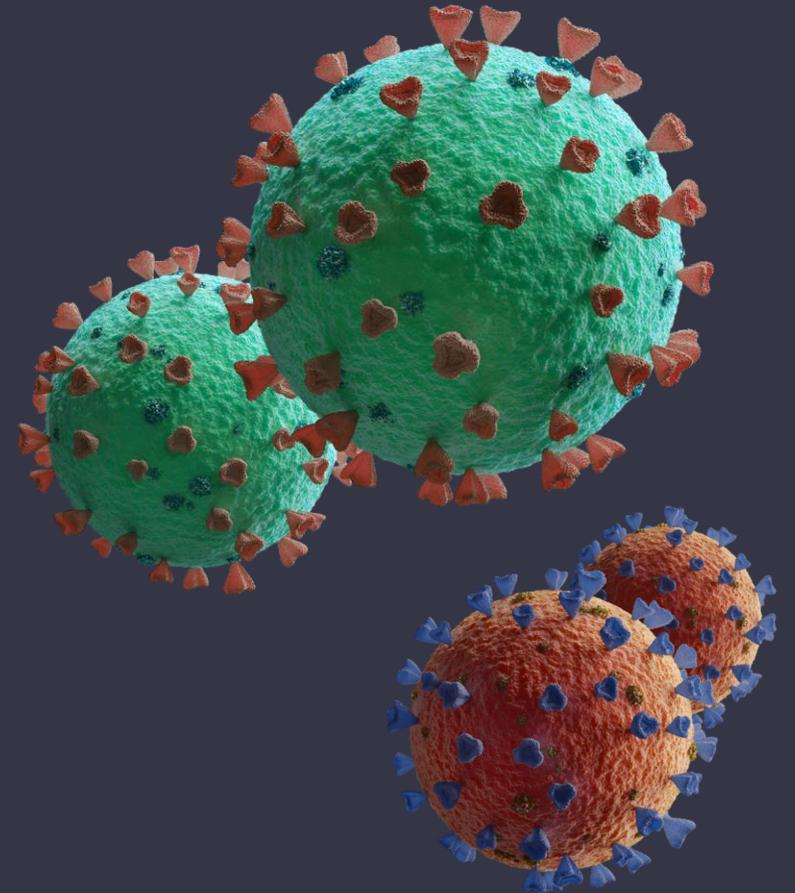


# MECCANISMI DI EVASIONE VIRALE

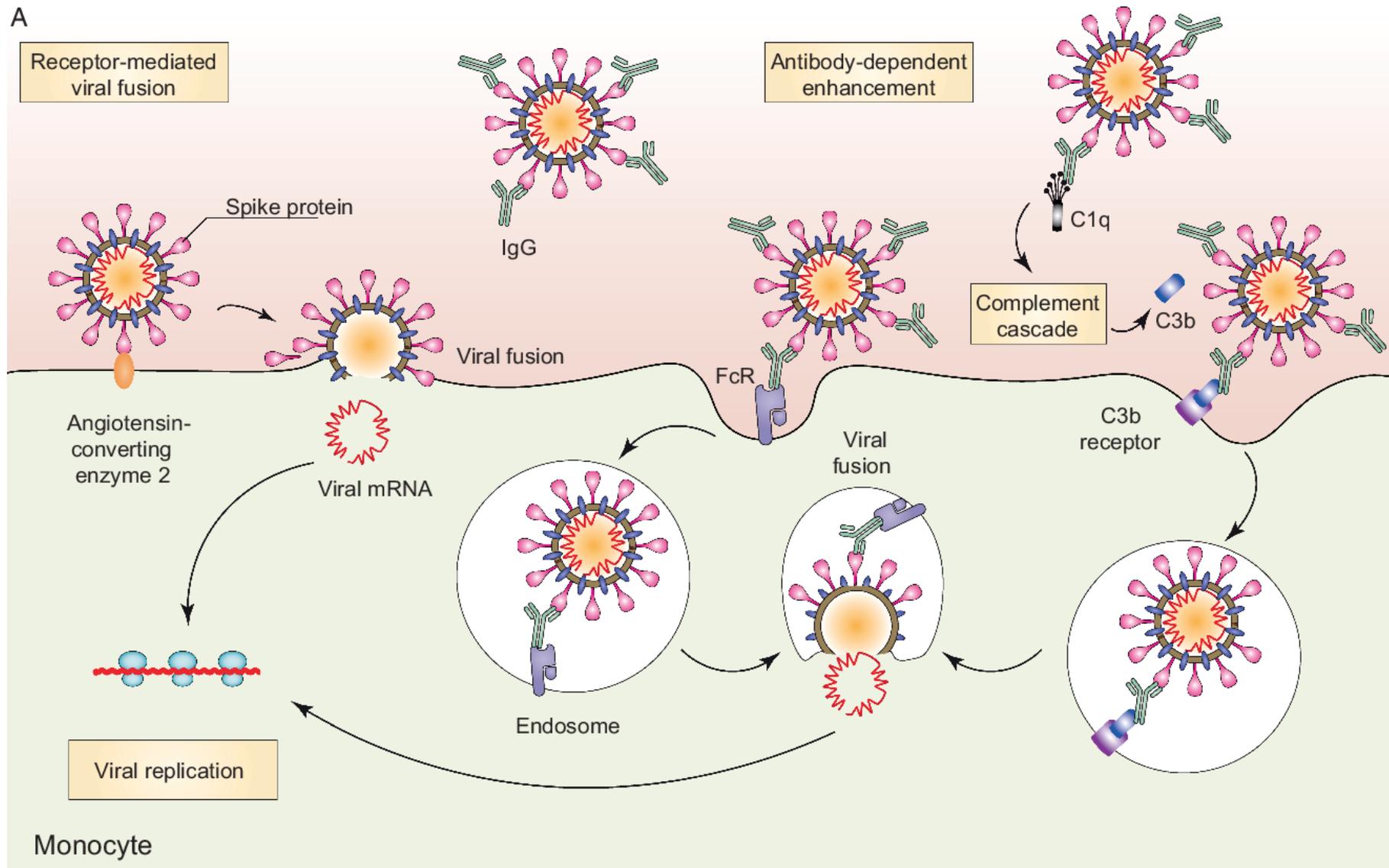
Quando il virus infetta le **cellule epiteliali** che presentano il recettore ACE2 in superficie, riesce ad evadere la risposta immunitaria antivirale bloccando la produzione degli interferoni di tipo I e delle citochine infiammatorie (IL-1, IL-6 e TNF- $\alpha$ ).

L'eccessiva replicazione virale e la morte delle cellule epiteliali richiamano dal flusso sanguigno le cellule del sistema immunitario innato che internalizzano il virus e attivano la risposta infiammatoria, con lo scopo di bloccare la replicazione del virus, che però porta ad un maggiore danno tissutale.

Quando il virus infetta le **cellule del sistema immunitario** (monociti e macrofagi tissutali) entra come complesso con gli anticorpi (immunocomplesso) attraverso il legame con il recettore Fc $\gamma$  presente sulla superficie di queste cellule, blocca la produzione degli interferoni e altri mediatori antivirali ma stimola un'alta produzione di citochine proinfiammatorie che portano alla tempesta di citochine e al danno tissutale grave (potenziamento della malattia mediata dall'anticorpo - ADE)



# MECCANISMI DI EVASIONE VIRALE



# MECCANISMI DI EVASIONE VIRALE

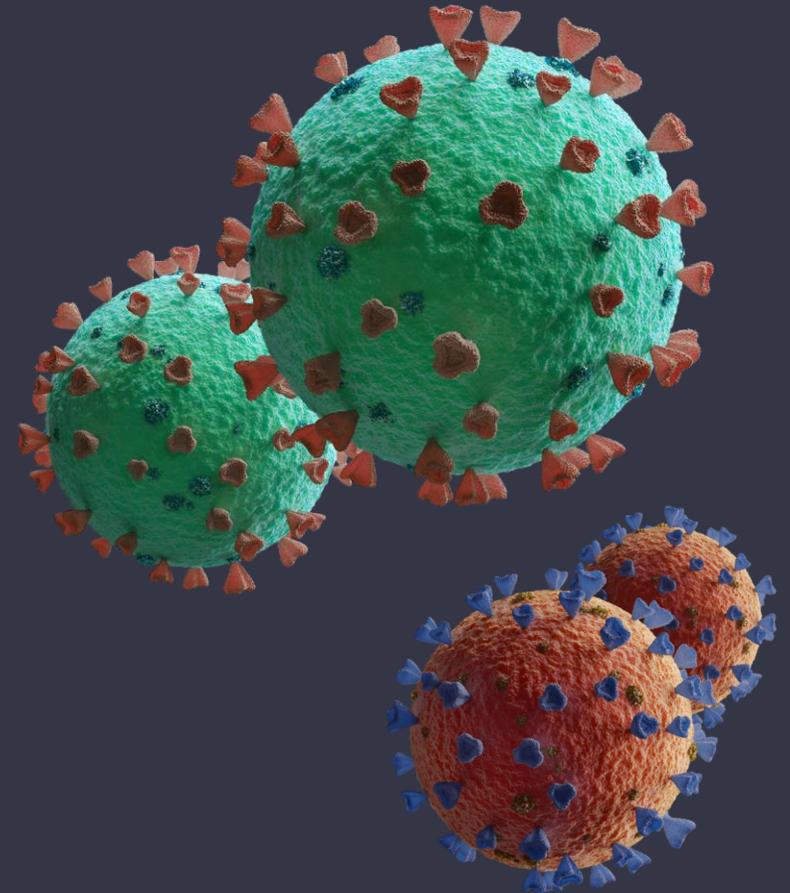
Dal punto di vista del meccanismo d'induzione del danno, le complicazioni gravi/fatali associate all'infezione da SARS-Cov-2 possono essere considerate una **conseguenza dell'ADE**.

*L'ADE spiega perché sono più a **maggior rischio gli anziani** rispetto ai bambini e gli adulti sani, in quanto possiedono una quantità maggiore di anticorpi non neutralizzanti provenienti da infezioni da coronavirus o da vaccinazioni non recenti, e presentano un sistema immunitario poco efficiente nel combattere le infezioni.*

Sono suscettibili al potenziamento della malattia anche le donne in gravidanza, e i neonati sotto l'anno di età, in caso di reinfezione.

*Il siero iperimmune e le IVIG sono efficaci nel trattamento dei malati COVID-19 perché gli anticorpi trasfusi sono in grado di bloccare l'ingresso degli immunocomplessi virali nelle cellule del sistema immunitario.*

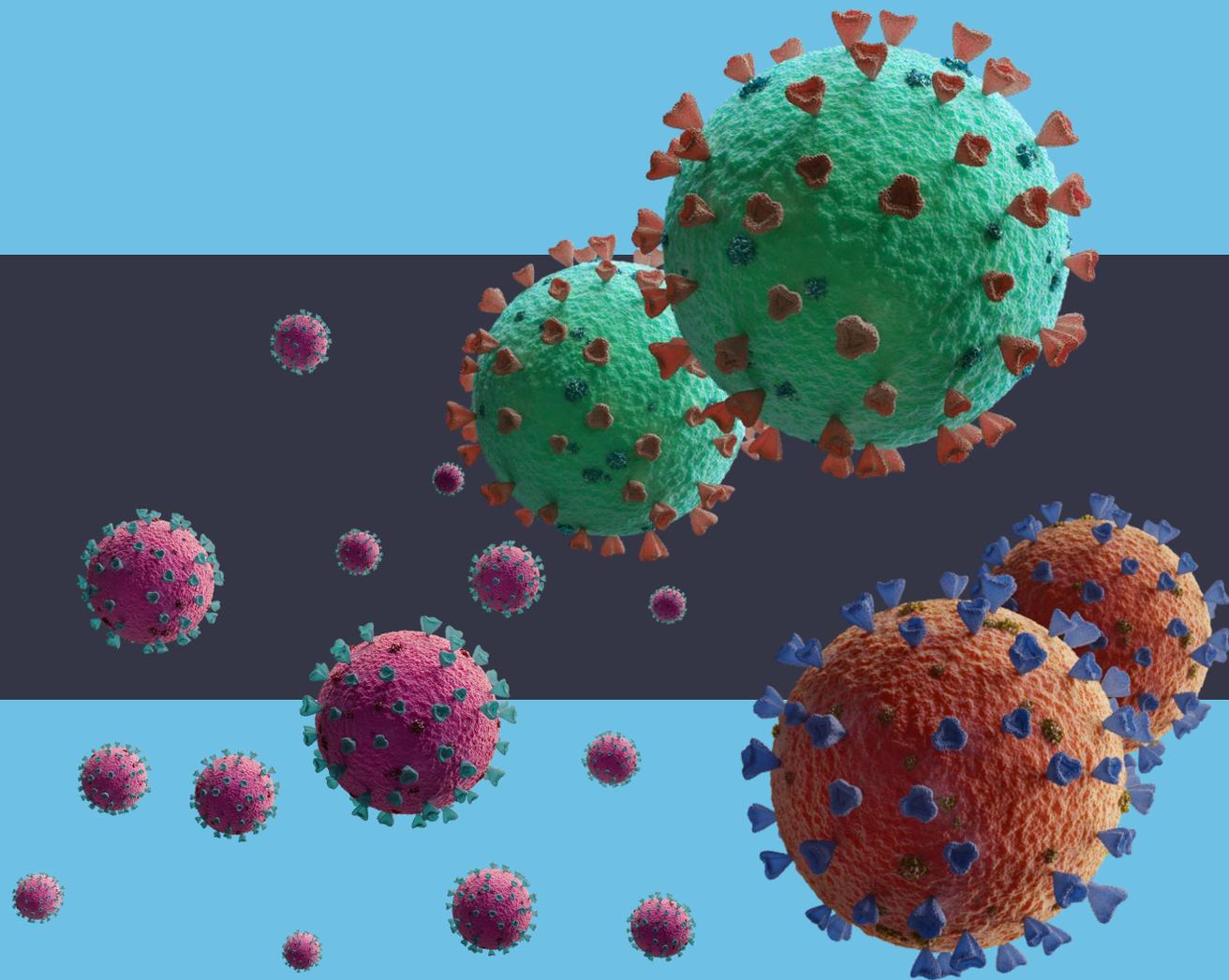
L'ADE è un fattore di rischio importante per le vaccinazioni contro il COVID-19 e l'influenza, a causa dell'elevata variabilità dei virus che può predisporre alla produzione di anticorpi non neutralizzanti.





FEDERAZIONE  
RINASCIMENTO  
ITALIA

# I VACCINI PER LA SARS-COV-2



# WHO - DRAFT LANDSCAPE OF COVID-19 CANDIDATE VACCINES

25 september 2020



<https://www.who.int/publications/m/item/draft-landscape-of-covid-19-candidate-vaccines>

## 40 vaccini candidati in sperimentazione clinica

<b>Non-Replicating Viral Vector</b>	<b>ChAdOx1-S</b>	<b>University of Oxford/AstraZeneca</b>	<b>SARS-CoV2</b>	<b>Phase 3</b> <b>ISRCTN89951424</b> <b>Phase 2b/3</b> <b>2020-001228-32</b> <b>Phase 1/2</b> <b>PACTR202006922165</b> <b>132 2020-001072-15</b>	<b>MERS, influenza, TB, Chikunguya, Zika, MenB, plague</b>
-------------------------------------	------------------	---	------------------	--	--

## 149 vaccini candidati in sperimentazione preclinica

# PROCEDURE DI AUTORIZZAZIONE – EMA

[HTTPS://WWW.EMA.EUROPA.EU/EN/AUTHORISATION-PROCEDURE](https://www.ema.europa.eu/en/authorisation-procedure)



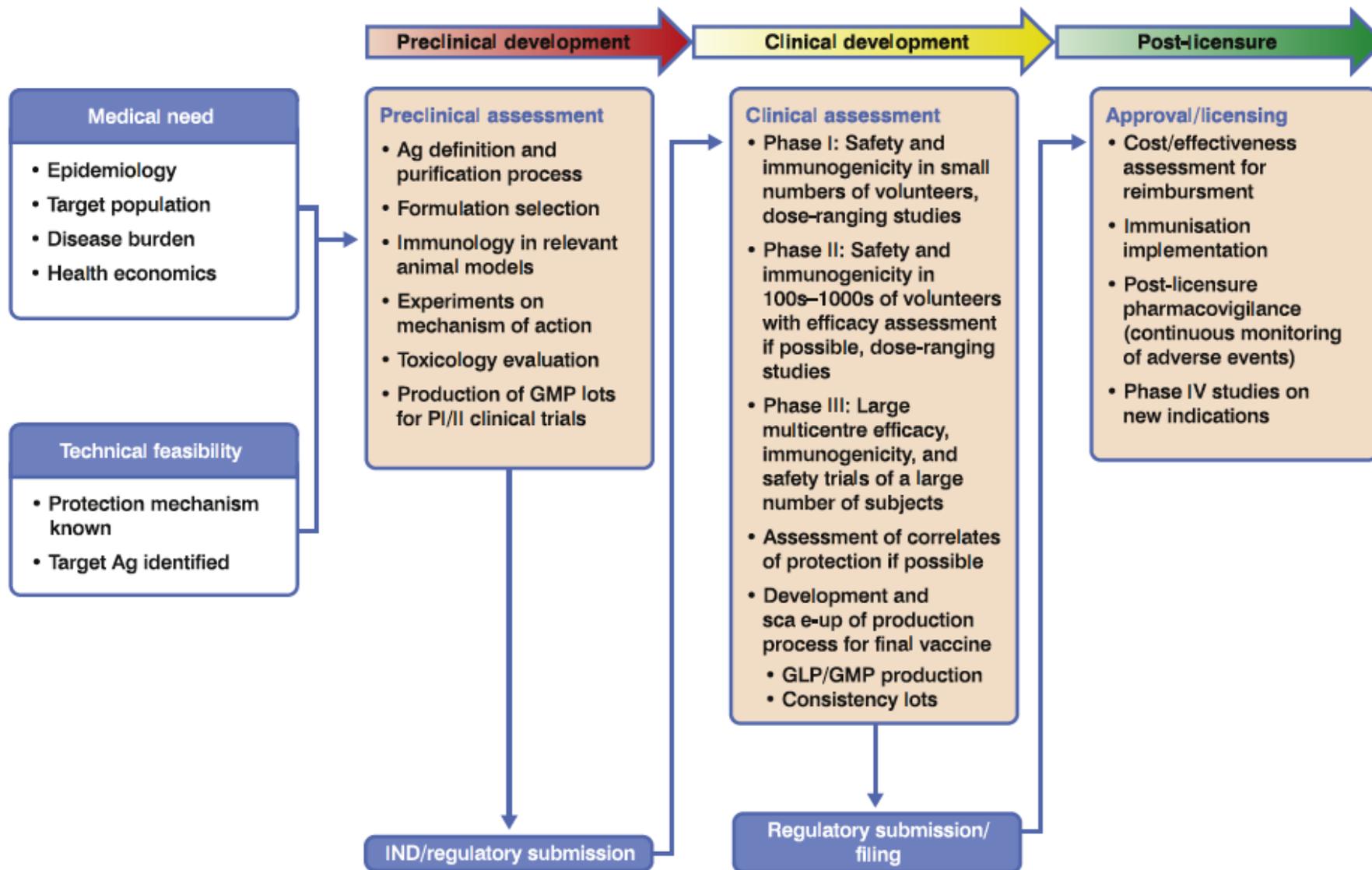
Le due procedure principali per l'autorizzazione dei vaccini contro l'influenza pandemica sono:

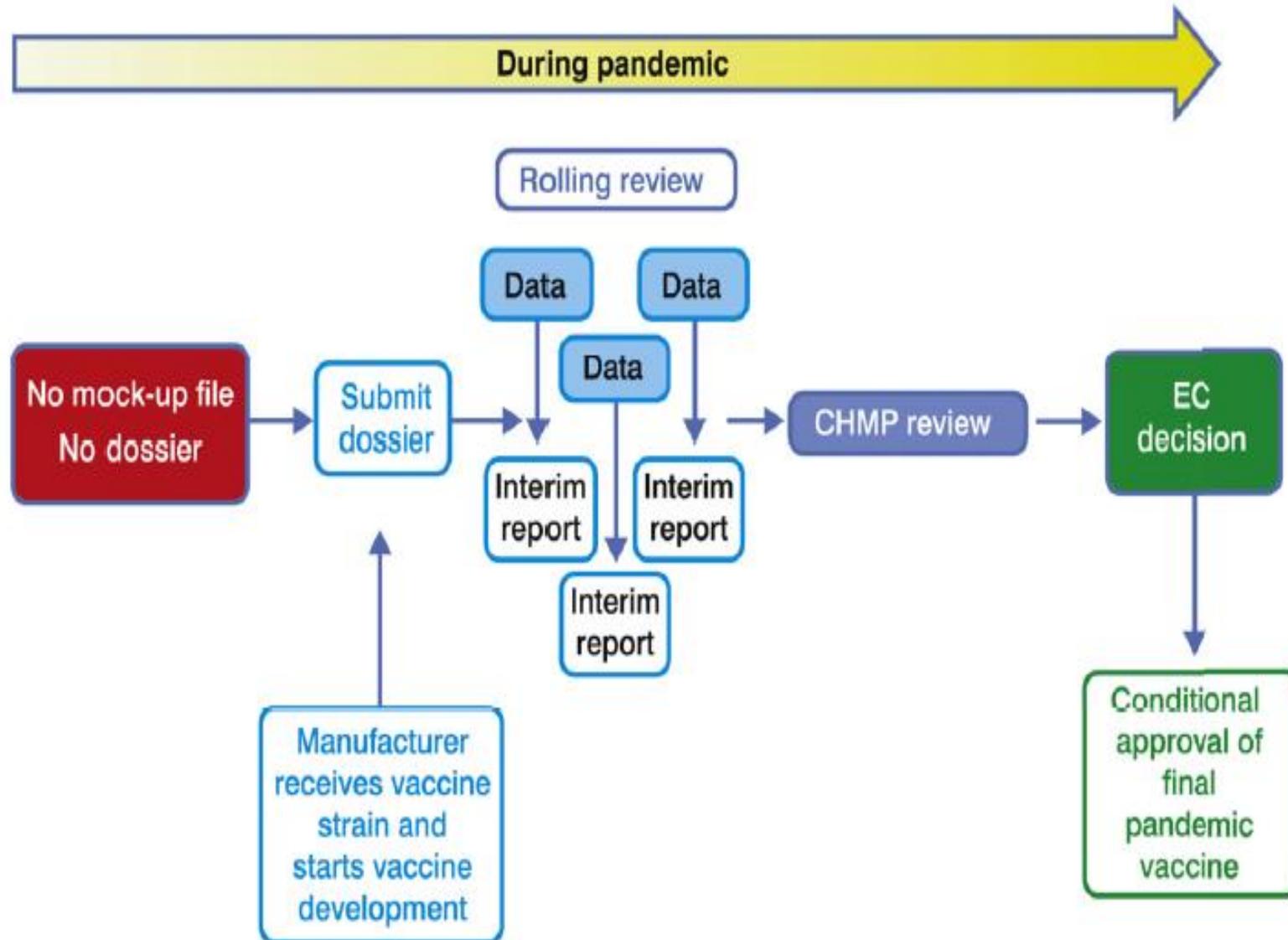
la **"procedura di simulazione" [mock-up procedure]**, che consente di sviluppare e autorizzare un vaccino prima di una pandemia, sulla base delle informazioni generate con un ceppo virale che potrebbe potenzialmente causare una pandemia. Una volta identificato il ceppo virale effettivo che causa la pandemia, il produttore può includere questo ceppo nel vaccino di simulazione e richiedere che sia autorizzato come vaccino pandemico "finale";

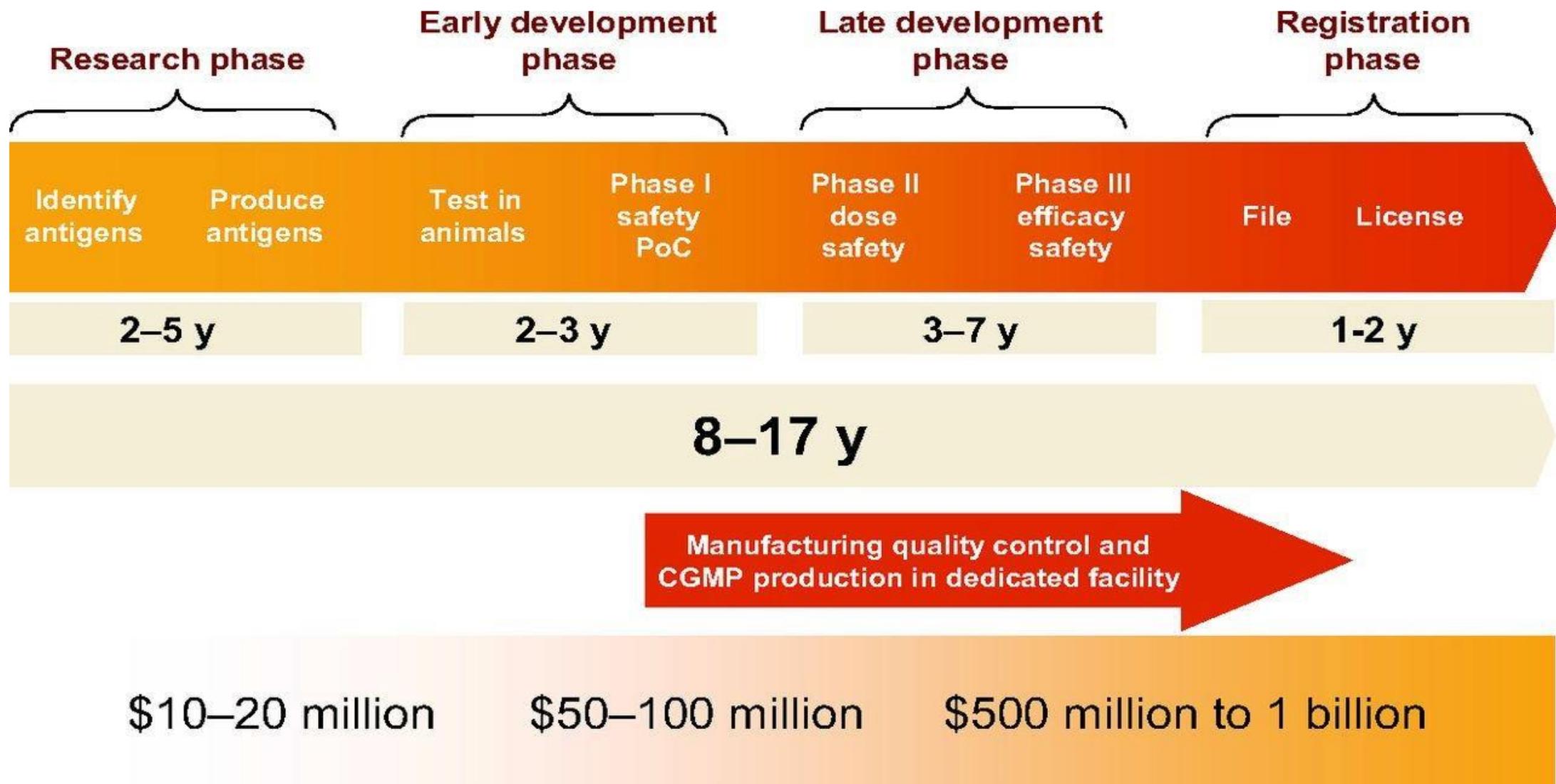
la **"procedura di emergenza"**, che consente

l'approvazione accelerata di un nuovo vaccino sviluppato dopo che una pandemia è già stata dichiarata. L'autorizzazione di questi vaccini contro la pandemia è più rapida rispetto a un normale vaccino, poiché le informazioni fornite dal produttore vengono valutate in un arco di tempo accelerato (circa 70 giorni anziché 210 giorni).

Una terza procedura consente di **modificare i vaccini autorizzati contro l'influenza non pandemica, "influenza stagionale"**, in modo da offrire protezione contro l'influenza pandemica





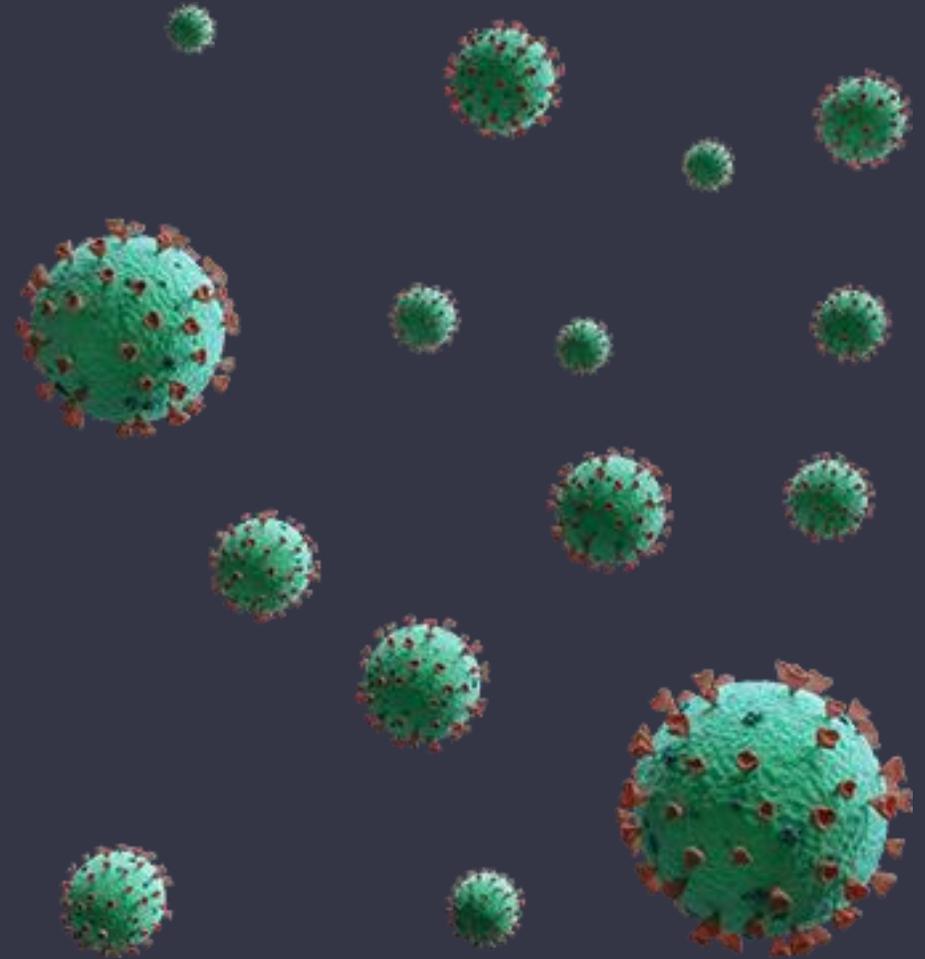


# EFFICACIA

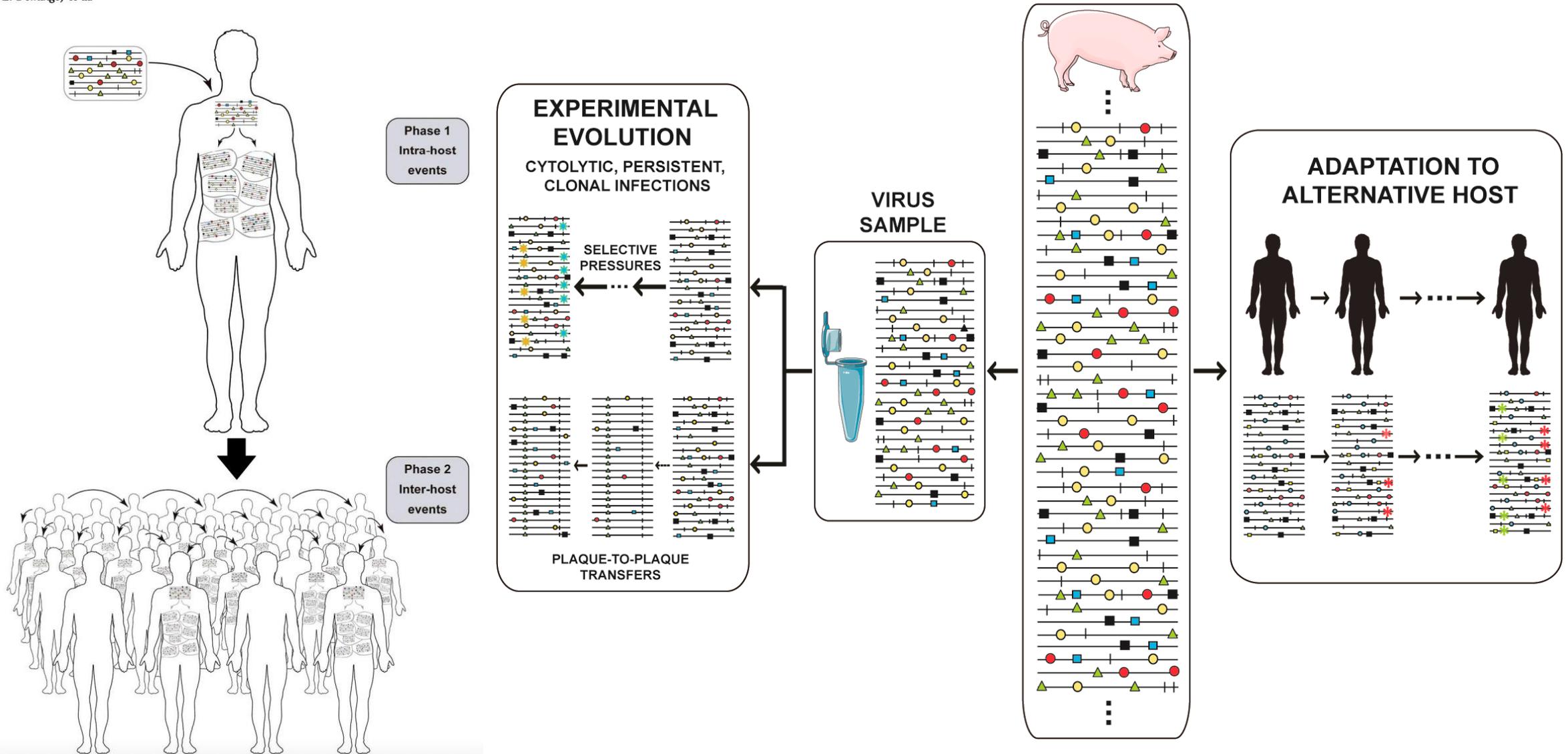
## QUASISPECIE

Le quasispecie virali sono definite come **'collezioni' di genomi virali strettamente correlati**, sottoposti a un processo continuo di variazione genetica, competizione tra le varianti generate e selezione delle distribuzioni più idonee in un dato ambiente

I tassi di errore per virus a RNA, retrovirus e alcuni virus a DNA sono nell'intervallo tra  $10^{-3}$  e  $10^{-5}$  mutazioni introdotte per nucleotide copiato, da  **$10^4$  a  $10^6$  volte superiore** a quelli che avvengono durante la normale replicazione del DNA cromosomico cellulare.



E. Domingo, et al.

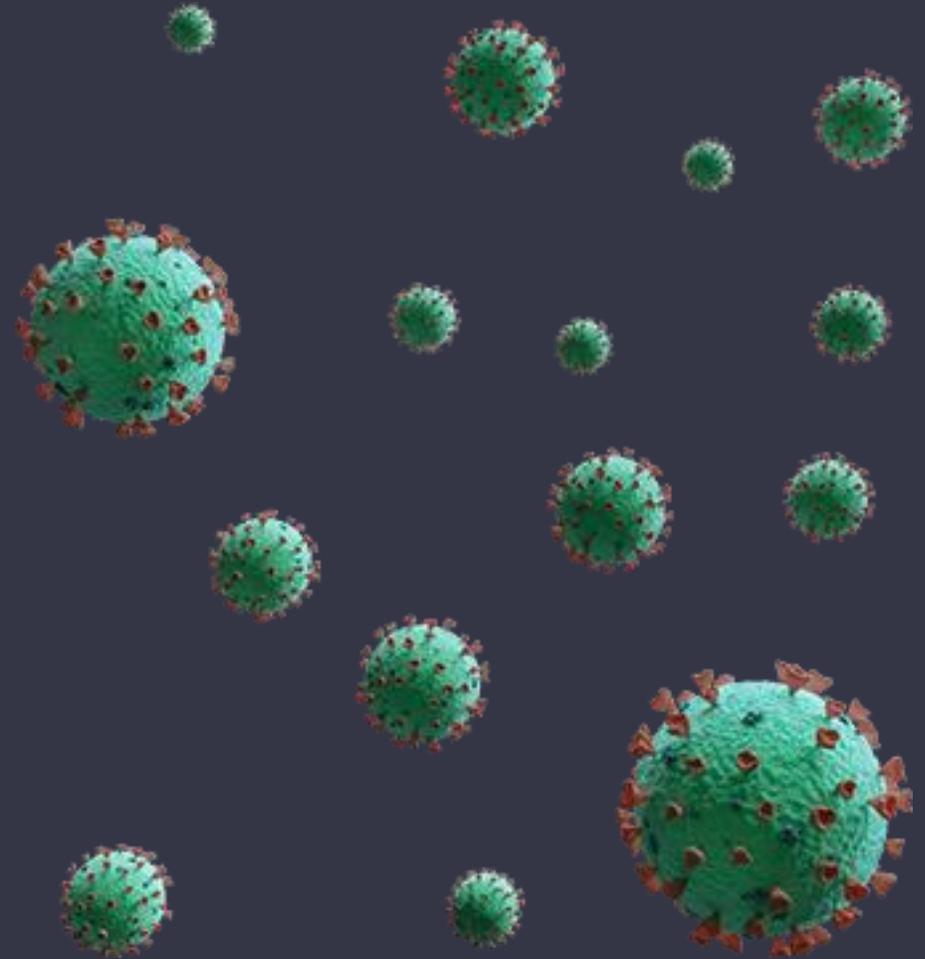


# TOSSICITA'

## IL PECCATO ANTIGENICO ORIGINALE

**Quando il vaccinato si infetta con un mutante del virus selvatico diverso rispetto all'antigene vaccinale, il suo sistema immunitario adattativo risponde in maniera non specifica e debole, perché programmato per rispondere in maniera efficace solo all'antigene vaccinale.**

**Il virus continua a replicarsi nel vaccinato portando ad un'infezione cronica con il rischio di sviluppare uno stato infiammatorio-autoimmune a lungo termine e recidive dell'infezione in forma atipica e resistente ai trattamenti farmacologici**

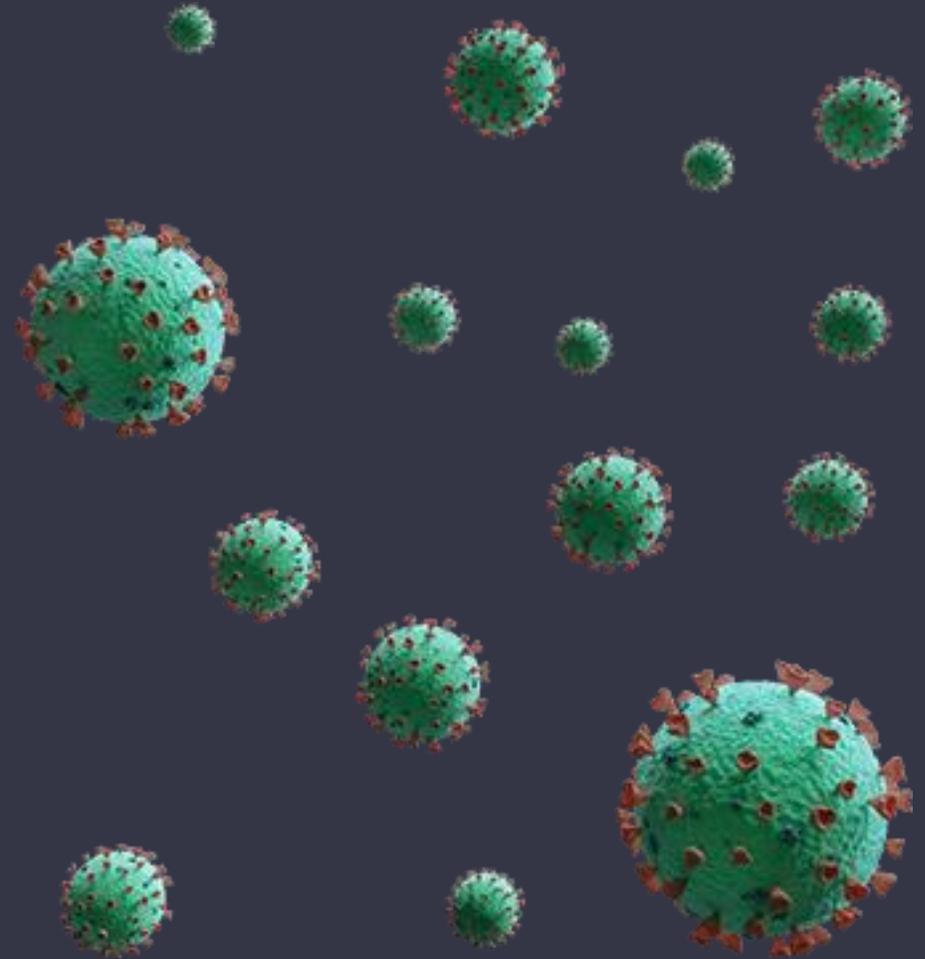


# TOSSICITA'

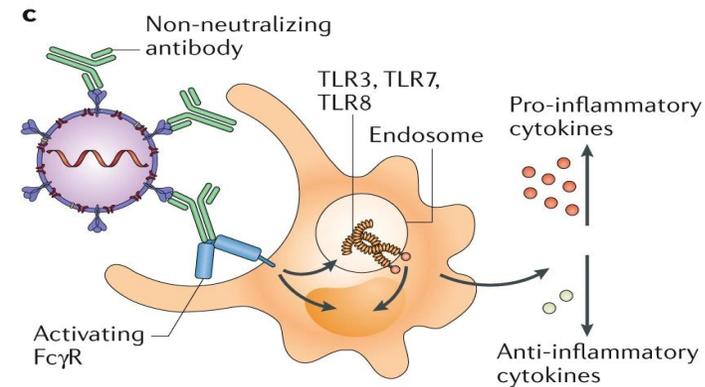
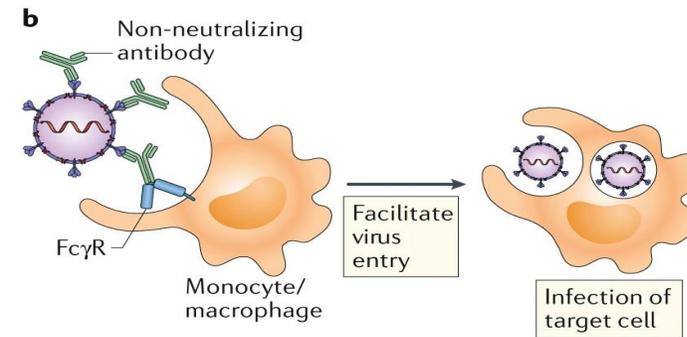
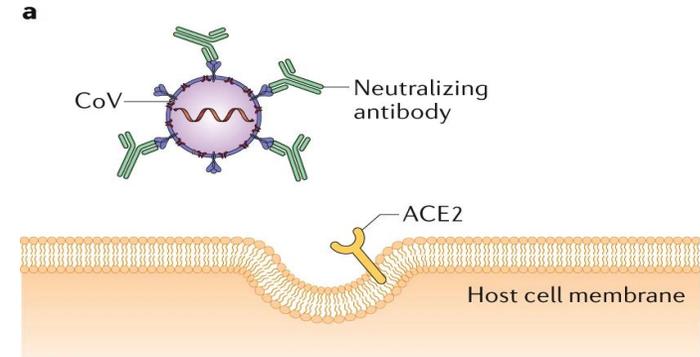
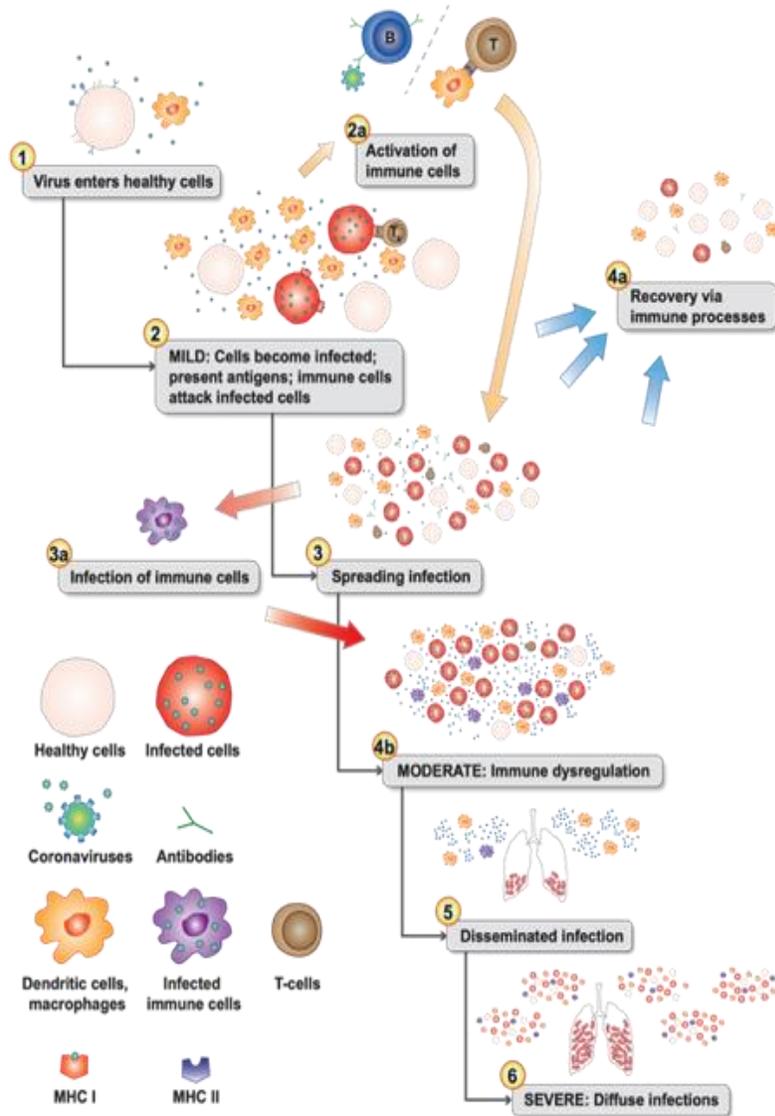
## IL POTENZIAMENTO DIPENDENTE DALL'ANTICORPO (ADE)

Quando un soggetto che possiede un livello anticorpale sub-ottimale (in seguito ad un'infezione primaria o a vaccinazione) viene a contatto con un virus simile e si infetta, il suo sistema immunitario favorisce l'infezione e le complicazioni fatali della malattia.

In altre parole, una parte dei vaccinati sono predisposti dalla vaccinazione proprio a manifestare le complicazioni gravi e fatali della malattia dalla quale si vogliono proteggere.



# TOSSICITA'

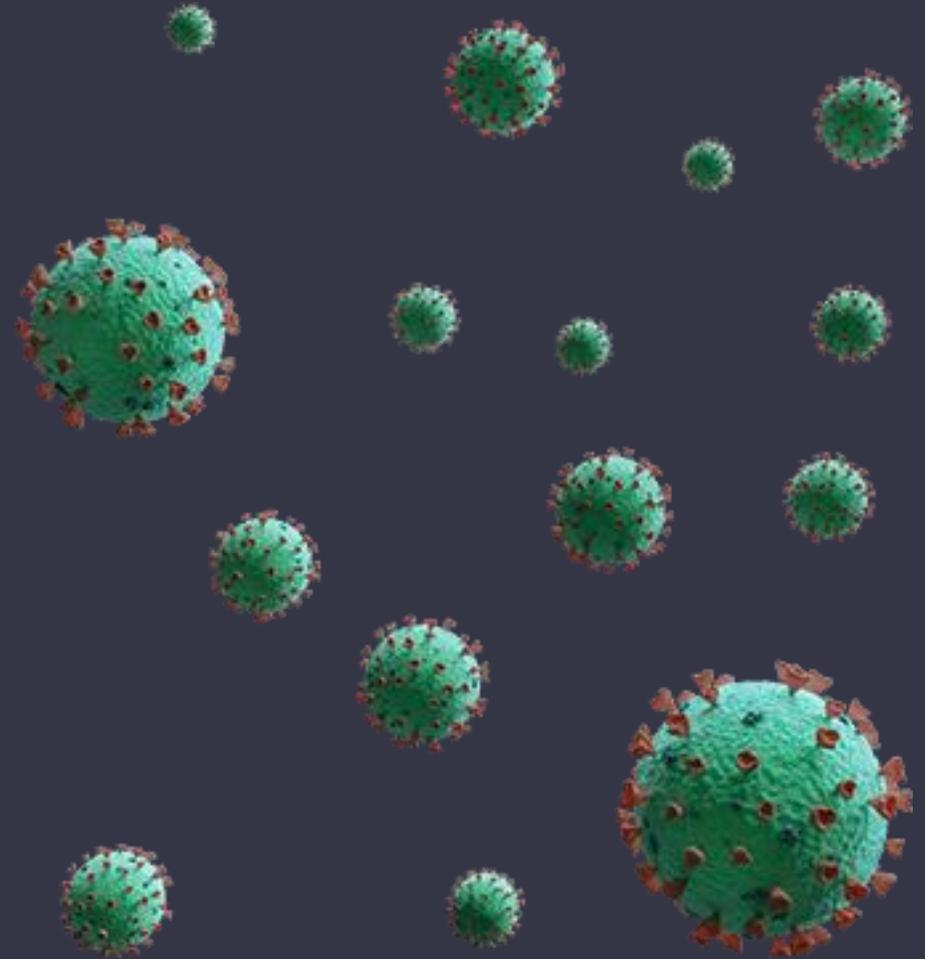


# TOSSICITA'

## LA SINDROME AUTOIMMUNE/INFIAMMATORIA

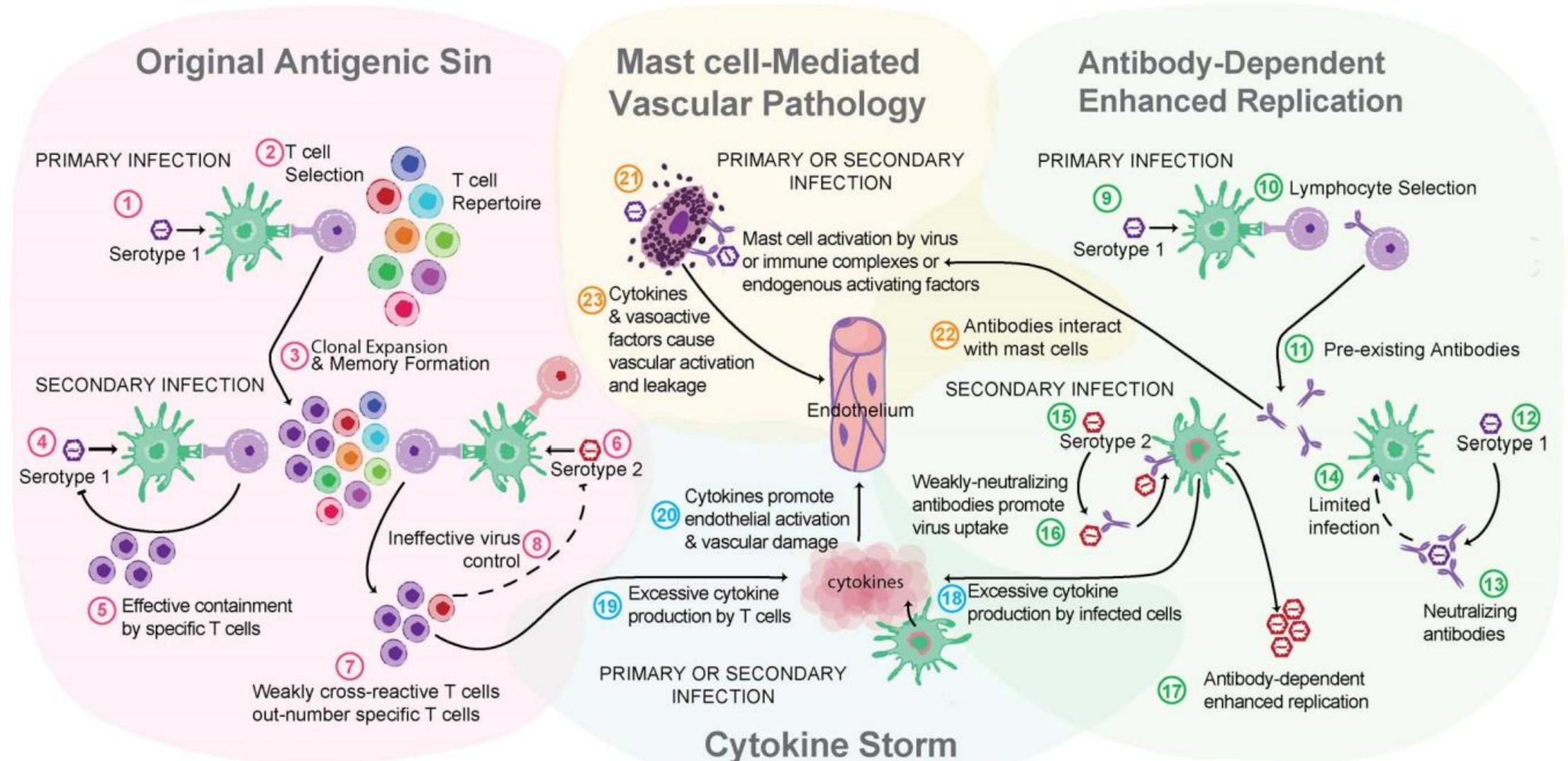
**Gli anticorpi prodotti in seguito alla vaccinazione, per mimetismo molecolare attaccano sia le proteine virali che le proteine umane, scatenando reazioni autoimmuni-inflammatorie contro le strutture dell'organismo.**

**L'autoimmunità quindi è una reazione avversa che può manifestarsi sia per effetto dell'eccessiva infiammazione da tempesta di citochine che comporta la distruzione dei tessuti, che in conseguenza del mimetismo molecolare tra l'antigene vaccinale e le proteine umane.**



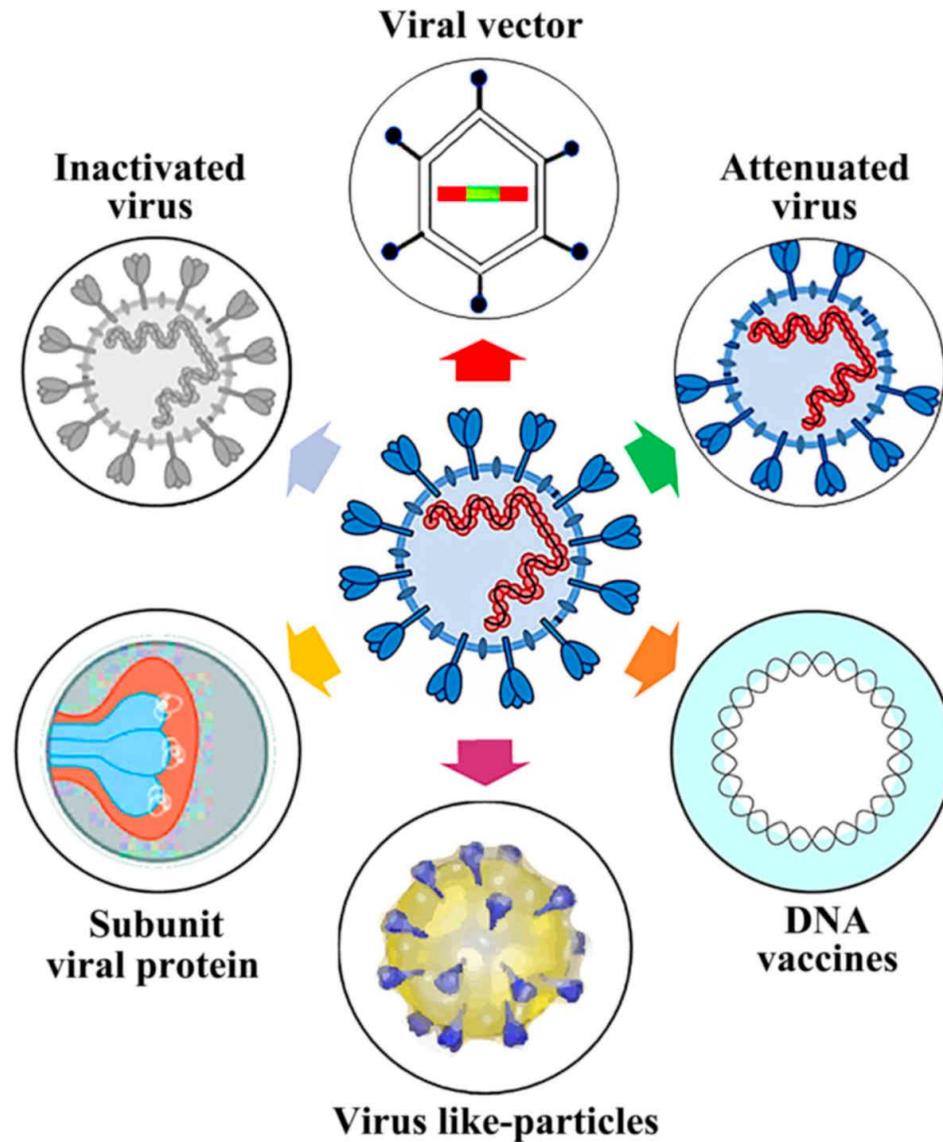
# TOSSICITA'

## LA SINDROME AUTOIMMUNE/INFIAMMATORIA



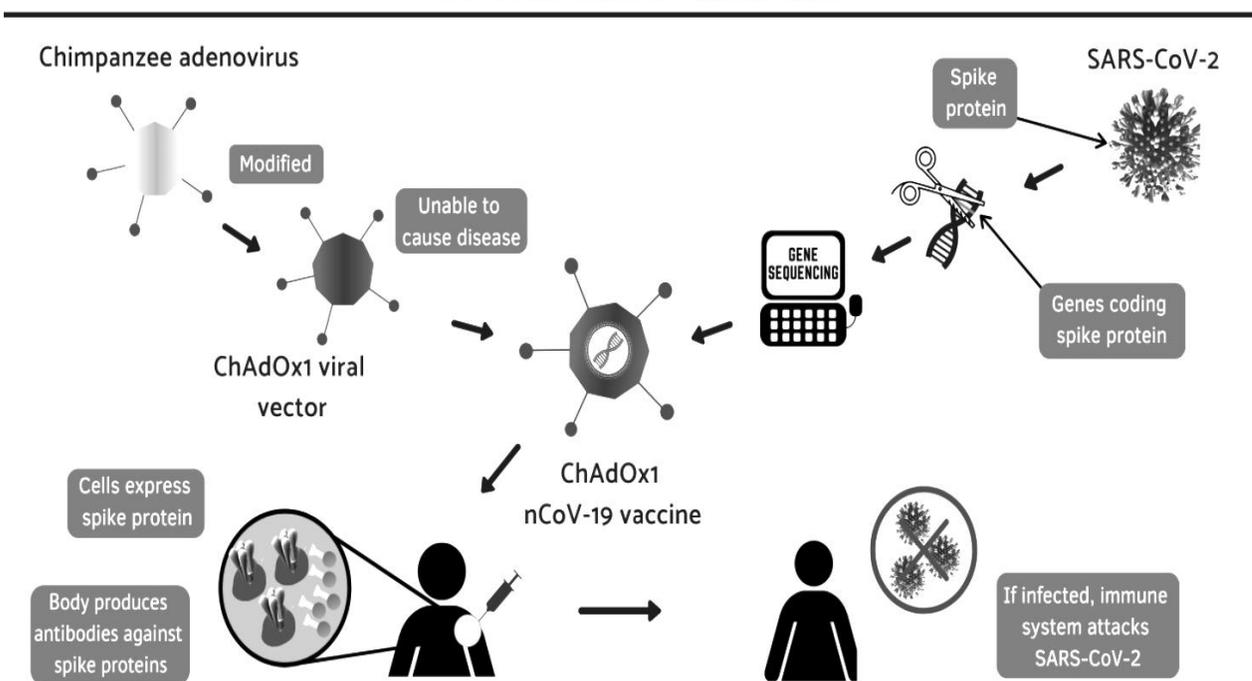
# TOSSICITA'

## LA SINDROME AUTOIMMUNE/INFIAMMATORIA

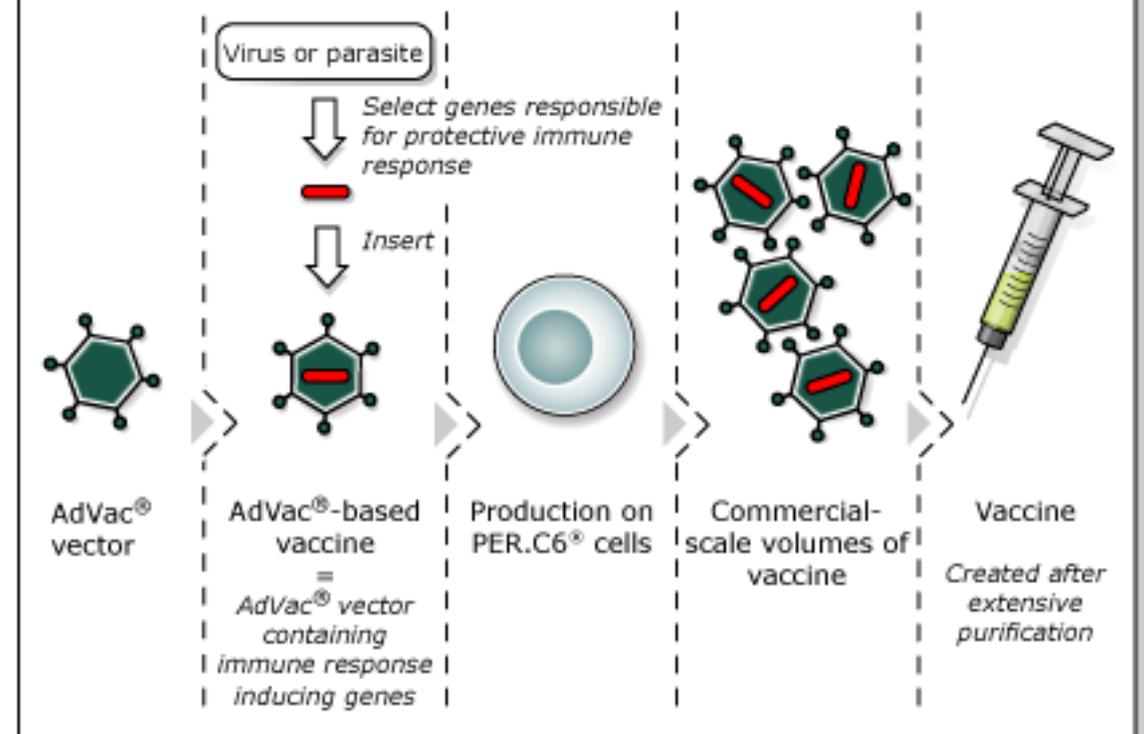


# MODALITA' DI PREPARAZIONE DELL'ANTIGENE VIRALE **VACCINO CHADOX1 NCOV-19**

COVID-19 Oxford Vaccine Trial



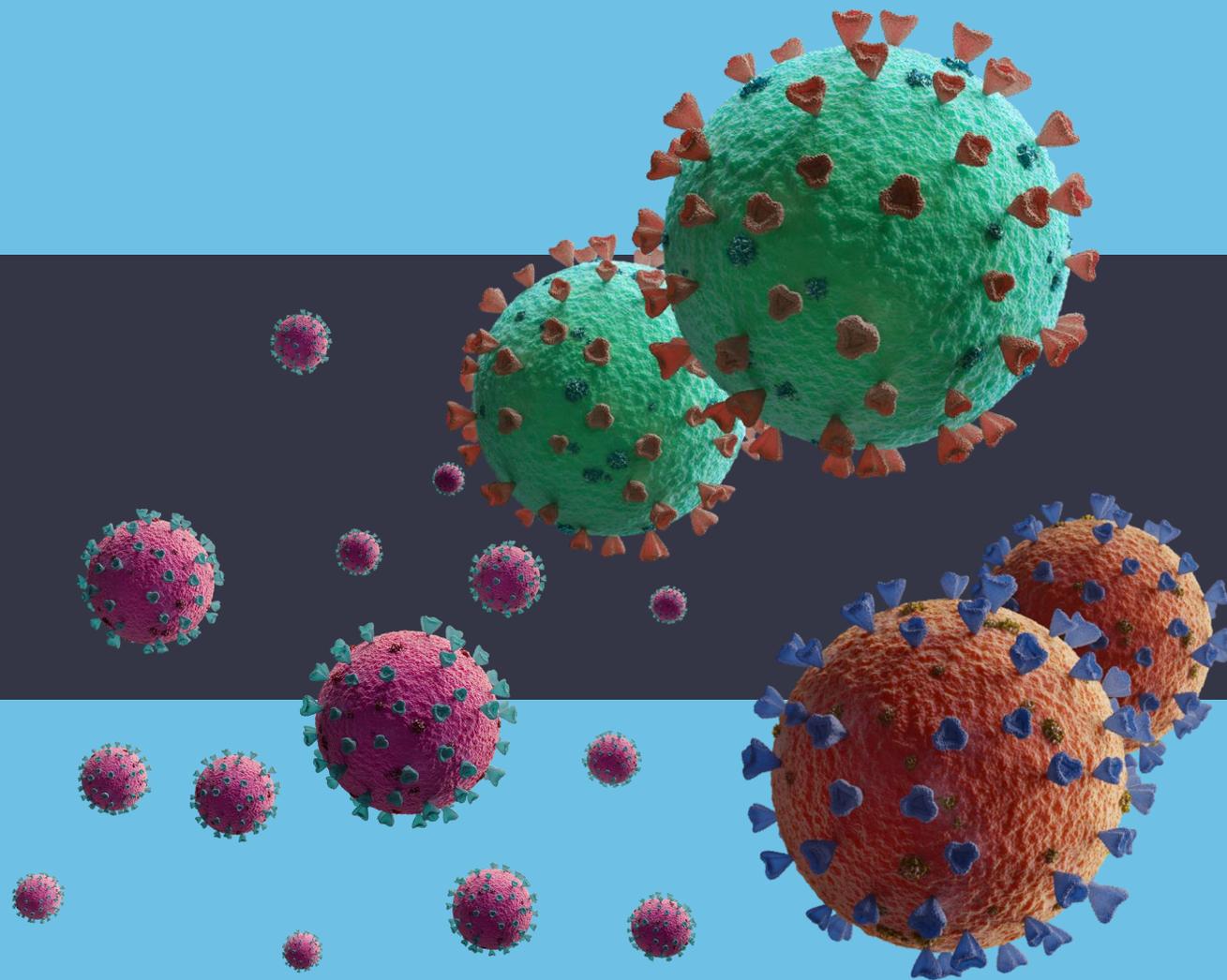
Recombinant adenoviral vaccine production process:





FEDERAZIONE  
RINASCIMENTO  
ITALIA

# L'ANTINFLUENZALE

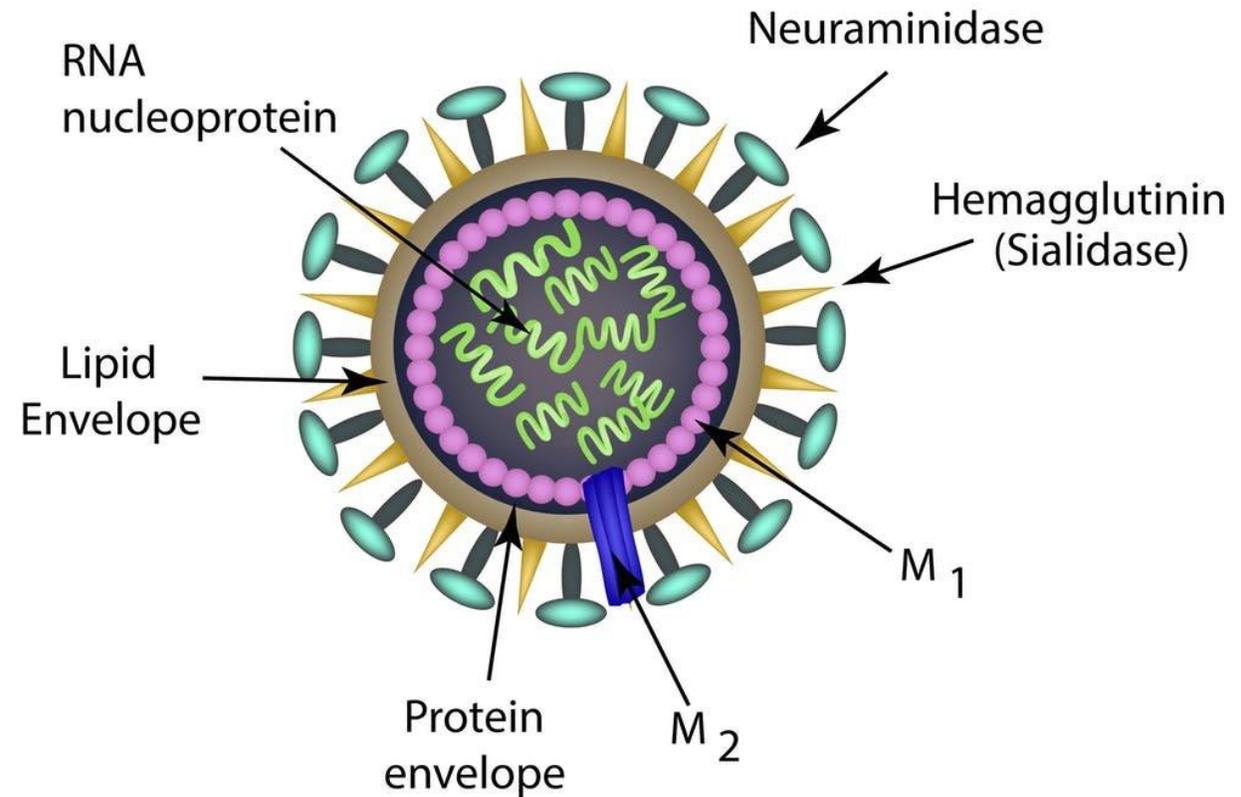


# IL VIRUS INFLUENZALE

Gli agenti causali dell'influenza stagionale sono di tre tipi, costituenti il genere **Orthomixovirus**: il virus di **tipo A** e il virus di **tipo B**, responsabili dei sintomi influenzali classici, e quello di tipo C, di scarso rilievo clinico (spesso asintomatico).

Le proteine capsulari, responsabili dell'attacco del virus ai recettori delle cellule dell'apparato respiratorio, si distinguono in: **H (emoagglutinina)** e **N (neuraminidasi)**.

Le proprietà antigeniche delle emoagglutinine dei virus influenzali di tipo A permettono di distinguere 16 specie molecolari, da H1 a H16. Queste, associate a 9 specie molecolari delle neuraminidasi, permettono di classificare i virus influenzali di tipo A in sottotipi di forma "**HxNy**" (es. H5N1). Sono virus pandemici l'H1N1, H2N2, H3N2.



Gli Orthomyxovirus sono una famiglia di virus a RNA a singolo filamento a polarità negativa ((-)ssRNA)

# IL VIRUS INFLUENZALE



<https://www.aifa.gov.it/web/guest/-/aifa-vaccini-influenzali-per-la-stagione-2020-2021>

Il vaccino antinfluenzale quadrivalente contiene 2 ceppi di virus di tipo A (**H1N1 e H3N2**) e 2 ceppi di virus di tipo B, appartenenti ai due **lineages B/Victoria e B/Yamagata**.

La mancata corrispondenza tra ceppi vaccinali e virus circolanti viene definita **mismatch**: un mismatch avviene quando il ceppo virale raccomandato e contenuto nel vaccino non corrisponde al ceppo che circola in modo predominante in quella stagione influenzale.

Poiché i vaccini trivalenti contengono un solo ceppo B, è evidente come la probabilità che si verifichi un **B mismatch** sia particolarmente elevata

## Vaccini anti-influenzali autorizzati per la stagione 2020-2021

Nome commerciale del vaccino	Modalità di somministrazione
<a href="#">Agrippal S1</a> - Trivalente	uso intramuscolare o sottocutaneo profondo
<a href="#">Fluad</a> - Trivalente	uso intramuscolare
<a href="#">Fluarix tetra</a> - Tetravalente	uso intramuscolare
<a href="#">Flucelvax tetra</a> - Tetravalente	uso intramuscolare
<a href="#">Fluenz tetra</a> - Tetravalente	uso nasale
<a href="#">Influpozzi subunità</a> - Trivalente	uso intramuscolare o sottocutaneo profondo
<a href="#">Influvac S</a> - Trivalente	uso intramuscolare o sottocutaneo profondo
<a href="#">Influvac S tetra</a> - Tetravalente	uso intramuscolare o sottocutaneo profondo
<a href="#">Vaxigrip tetra</a> - Tetravalente	uso intramuscolare o sottocutaneo

### NOTA:

EFLUELDA (uso intramuscolare o sottocutaneo) e FLUAD TETRA (uso intramuscolare) sebbene abbiano ricevuto l'Autorizzazione all'Immissione in Commercio nel 2020, non sono autorizzati per la stagione influenzale 2020/2021.

# I VACCINI DISPONIBILI

**Vaccini inattivati (VII)** I vaccini antinfluenzali inattivati attualmente autorizzati per l'uso in Italia sono un mix di vaccini a virus split e subunità. Nei vaccini split, il virus è stato reso non patogeno attraverso il trattamento con un detergente. Nei vaccini a subunità, gli antigeni emoagglutinina (HA) e neuraminidasi (NA) sono stati ulteriormente purificati mediante la rimozione di altri componenti virali.

Attualmente in Italia sono disponibili vaccini antinfluenzali trivalenti (TIV) che contengono 2 virus di tipo A (H1N1 e H3N2) e un virus di tipo B e vaccini quadrivalenti (QIV) che contengono 2 virus di tipo A (H1N1 e H3N2) e 2 virus di tipo B

**Vaccino inattivato adiuvato (VIIa)** Uno dei prodotti trivalenti (Fluad) contiene l'adiuvante MF59, un'emulsione olio-in-acqua composta da squalene come fase oleosa.

*\* l'attivazione di un'inflammatione molto potente dovuta all'adiuvante potrebbe aggravare la sindrome da tempesta di citochine osservata nei pazienti COVID-19*



# I VACCINI DISPONIBILI

**Vaccini inattivati (VII)** I vaccini antinfluenzali inattivati attualmente autorizzati per l'uso in Italia sono un mix di vaccini a virus split e subunità.

Nei vaccini split, il virus è stato reso non patogeno attraverso il trattamento con un detergente. Nei vaccini a subunità, gli antigeni emoagglutinina (HA) e neuraminidasi (NA) sono stati ulteriormente purificati mediante la rimozione di altri componenti virali.

**Vaccino inattivato adiuvato (VIIa)** Uno dei prodotti trivalenti (Fluad) contiene l'adiuvante MF59, un'emulsione olio-in-acqua composta da squalene come fase oleosa.

*\* l'attivazione di un'inflammatione molto potente dovuta all'adiuvante potrebbe aggravare la sindrome da tempesta di citochine osservata nei pazienti COVID-19*



# I VACCINI DISPONIBILI

**Vaccino vivo attenuato (LAIV)** Il vaccino LAIV Quadrivalente è un vaccino antinfluenzale vivo attenuato somministrato con spray intranasale e autorizzato per l'uso in persone di età compresa tra 2 e 59 anni. Il vaccino non è attualmente disponibile in Italia

*\* Nervous system disorders: Guillain-Barré syndrome, Bell's Palsy, meningitis, eosinophilic meningitis, vaccine-associated encephalitis*

*Congenital, familial, and genetic disorders: Exacerbation of symptoms of mitochondrial encephalomyopathy (Leigh syndrome)*

<https://www.fda.gov/media/83072/download> (RCP FluMist)

**Vaccino inattivato quadrivalente su colture cellulari (VIQCC)** Il vaccino VIQCC è un vaccino antinfluenzale quadrivalente che contiene 2 virus di tipo A (H1N1 e H3N2) e 2 virus di tipo B cresciuti su colture cellulari (cellule Madin Darby Canine Kidney (MDCK) \* – Flucelvax Tetra)

*\* Cellule immortalizzate. Rischio di contaminazione di residui delle cellule della coltura, virus avventizi delle cellule*



# I VACCINI DISPONIBILI

**Vaccino ad alto dosaggio (HD)** Il vaccino ad alto dosaggio è un vaccino split quadrivalente che contiene due virus di tipo A (H1N1 e H3N2) e due virus di tipo B contenente 60 mcg di emoagglutinina (HA) per ciascun ceppo virale per garantire una maggiore risposta immunitaria e quindi una maggiore efficacia, indicato nei soggetti di età pari o superiore a 65 anni

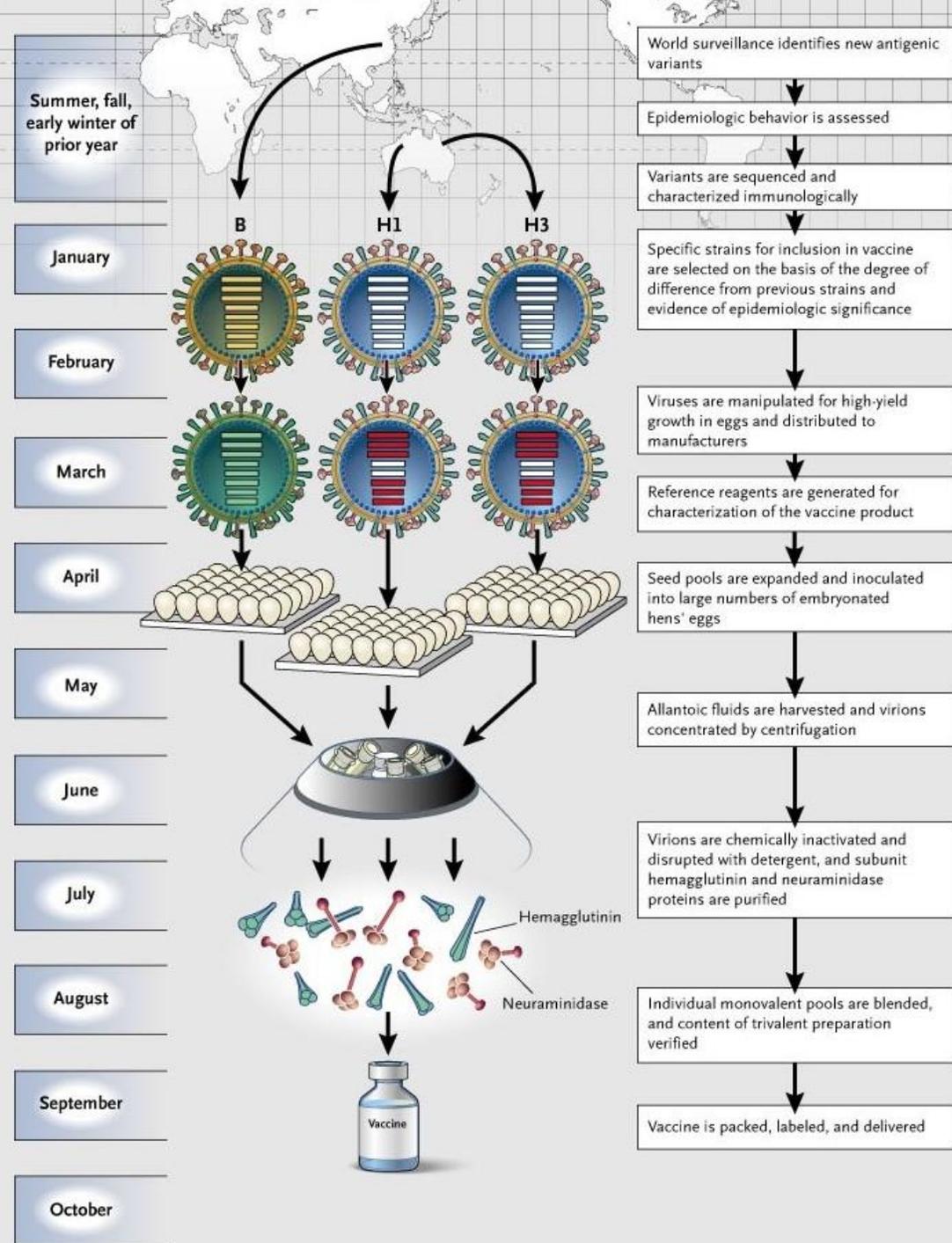
Sono coltivati in **uova embrionate di gallina**

*Agrippal; Fluad; Fluarix tetra; Fluenz Tetra spray nasale; Influpozzi subunità; Influvac S; Influvac S tetra; Vaxigrip Tetra*

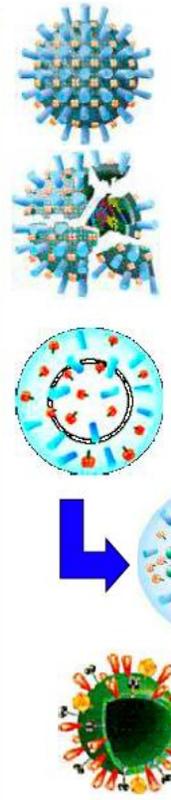
*\* Rischio di contaminazioni di virus avventizi provenienti dall'ambiente e dalla linea cellulare, e residui di cellule fetali*



# I TIPI DI VACCINO ANTI-INFLUENZALI



1958  
1968  
1976  
1997  
2002



1958 virus intero **inattivato**

1968 particelle virali **disgregate** (vaccini split)

1976 **solo** antigeni virali di superficie **H e N** (vaccini a subunità)

1997 **adiuvati con MF59**

2002 **virosomale**

*Recenti Novità*

- **Intradermico** – split con nuovo delivery system
- **Intransale** – vaccino vivo attenuato

# VACCINI ANTINFLUENZALI

## EFFICACIA E SICUREZZA

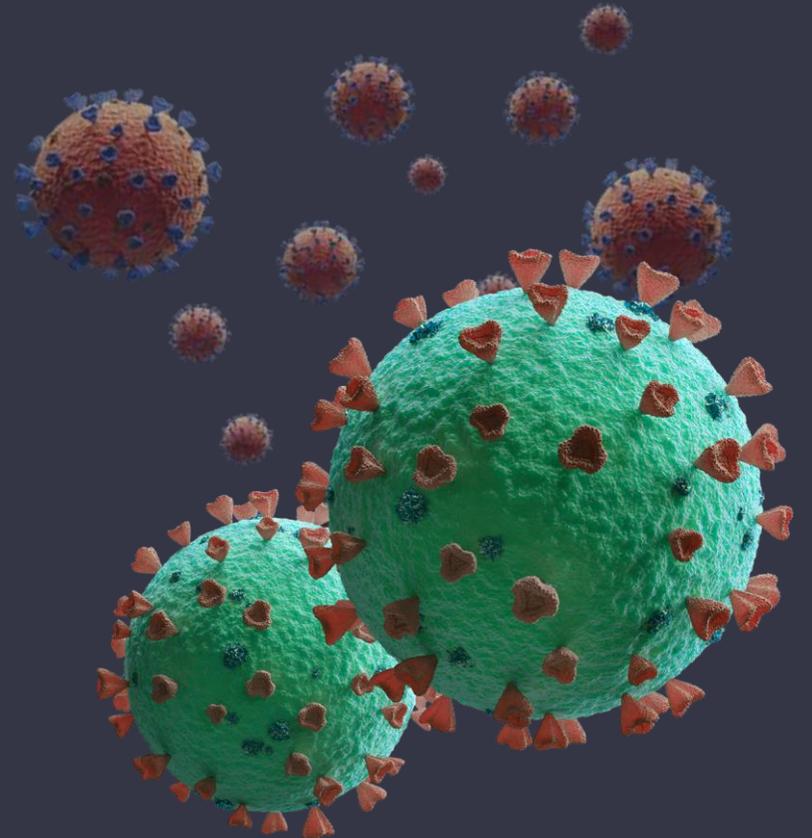
### Featured Review: Three updated Cochrane Reviews assessing the effectiveness of influenza vaccines (Febbraio 2018)

«Da quanto riportato da questa recensione, si può concludere che: gli studi revisionati non erano in grado di fornire dati sufficienti per definire l'incidenza delle reazioni avverse e delle complicanze e, nel caso degli anziani, la riduzione della mortalità per le conseguenze dell'influenza.

Complessivamente, l'efficacia per i tre gruppi di età è piuttosto modesta e attribuibile alla scarsa capacità protettiva del vaccino nei vaccinati; anche per l'efficacia molte informazioni necessarie per quantificarla sono carenti o assenti.

Quindi i dati revisionati si possono considerare non conclusivi riguardo il reale beneficio della vaccinazione antinfluenzale o, al massimo, sembrano indicare un effetto protettivo di entità estremamente ridotta.

<https://www.cochrane.org/news/featured-review-three-updated-cochrane-reviews-assessing-effectiveness-influenza-vaccines>



# VACCINI ANTINFLUENZALI

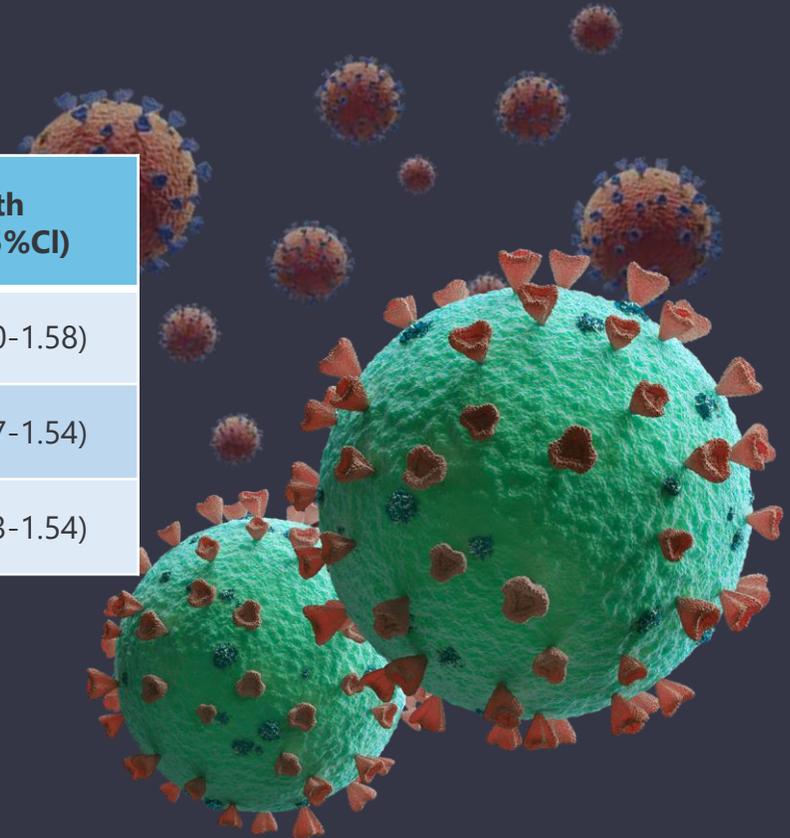
## EFFICACIA E SICUREZZA

### Influenza vaccine effectiveness in an Italian elderly population during the 2016-2017 season

Ann Ist Super Sanità 2018 | Vol. 54, No. 1: 67-71 Francesca Valent and Tolinda Gallo

	ED visit HR <sup>1</sup> (95% CI)	Outcome Hospitalization HR <sup>1</sup> (95%CI)	Death HR <sup>1</sup> (95%CI)
Influenza vaccination (any vs no vaccination)	1.13 (0.91-1.40)	1.11 (0.93-1.33)	1.05 (0.70-1.58)
Influenza vaccination (intradermal vs no vaccination)	1.11 (0.95-1.48)	1.11 (0.92-1.34)	1.02 (0.67-1.54)
Influenza vaccination (tetravalent vs no vaccination)	0.81 (0.46-1.41)	1.47 (1.00-2.15)	1.12 (1.03-1.54)

la vaccinazione tetravalente è quella che presenta il rischio più alto, con un aumento medio del **47%** (da 0% a ben 215%) di **ricoveri per complicanze** (influenza e polmoniti) e del **12% di decessi** (dal 3% al 54%).





FEDERAZIONE  
RINASCIMENTO  
ITALIA

**#FRI\_mi\_PROTEGGE**

[www.rinascimentoitalia.it](http://www.rinascimentoitalia.it)

