

**Novità in tema di
vaccini e vaccinazioni**

LE BRONCHIOLITI

Gian Vincenzo Zuccotti

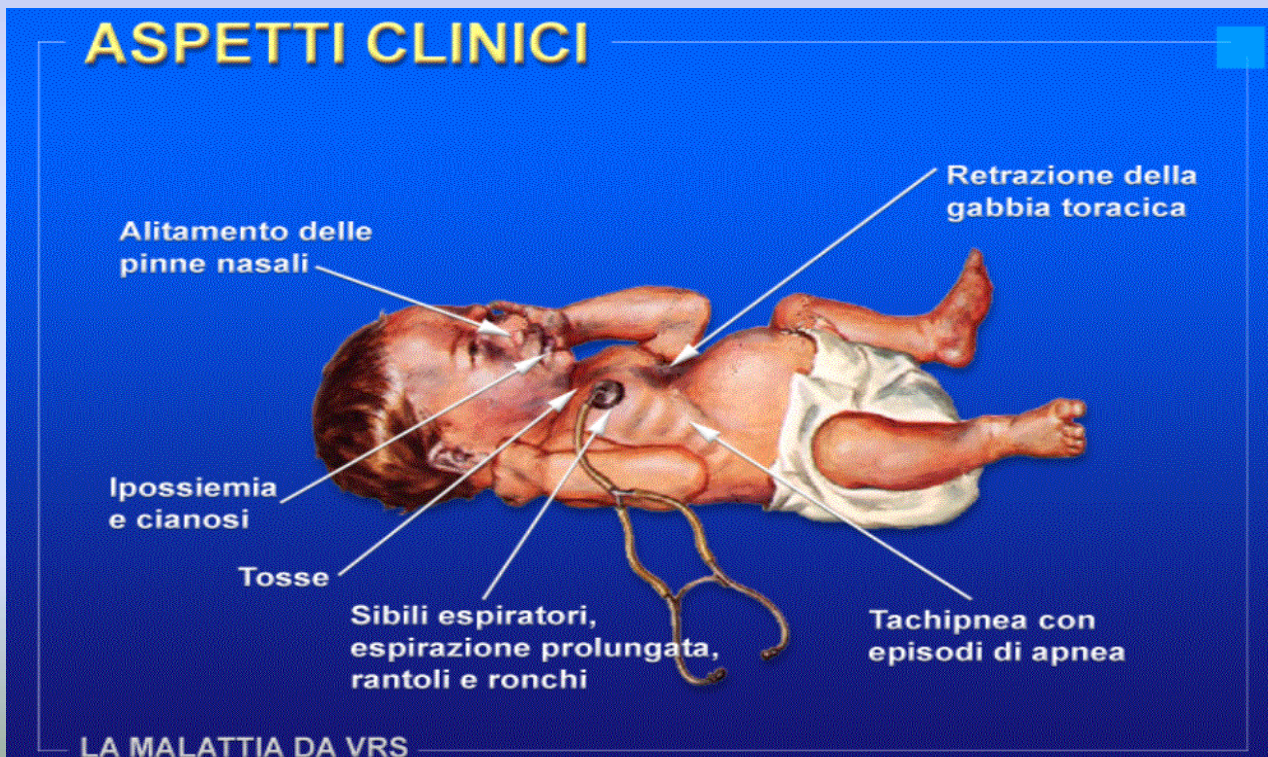
Clinica Pediatrica

Università di Milano

AO Luigi Sacco

Definizione

Malattia infiammatoria acuta delle basse vie respiratorie che colpisce i bambini < 2 anni ed è caratterizzata da febbre (38.5-39 °C, non sempre) →



Eziologia

- **Virus respiratorio sinciziale (RSV)**

➔ 70-80% dei casi

- Virus parainfluenzali
- Adenovirus tipi 1, 2, 3
- Rhinovirus
- Virus influenzale
- Metapneumovirus

Comparison of Human Metapneumovirus, Respiratory Syncytial Virus and Influenza A Virus Lower Respiratory Tract Infections in Hospitalized Young Children

ana G. Wolf, MD,* David Greenberg, MD,† Davina Kalkstein, MD,* Yonat Shemer-Avni, PhD,‡
 Noga Givon-Lavi, PhD,† Niveen Saleh, BSc,* Miri D. Goldberg, BSc,* and Ron Dagan, MD†
 (Pediatr Infect Dis J 2006;25: 320–324)

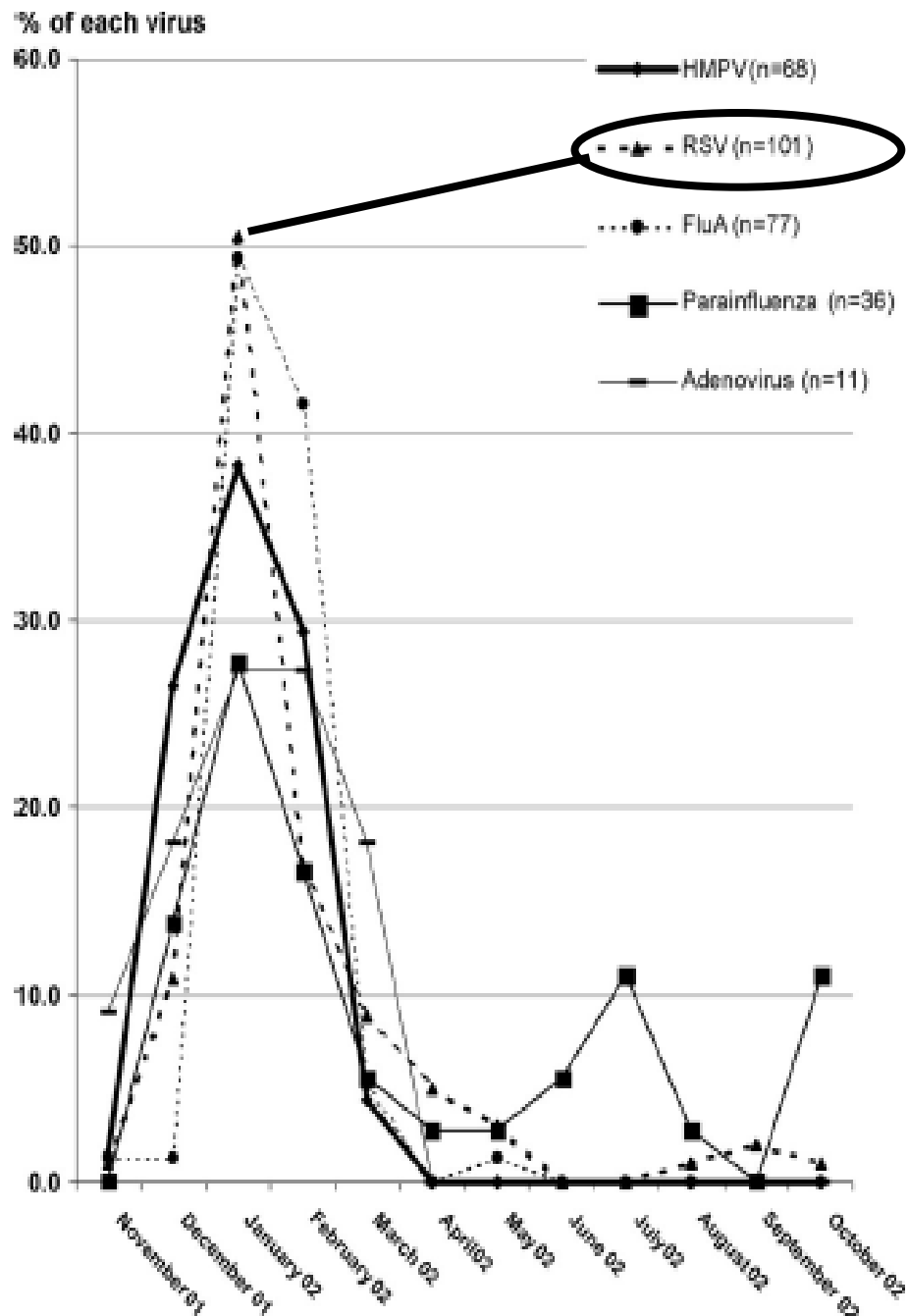


FIGURE 1. Temporal distribution of respiratory viruses among children hospitalized with lower respiratory tract infections from November 2001 through October 2002. Data are displayed as the proportion of each virus detected monthly

TABLE 1. Comparison of Demographic Characteristics and Medical History in Children With HMPV, RSV, Influenza A and HMPVco Infection

Characteristic	HMPV (N = 48)	RSV (N = 79)	FluA (N = 53)	HMPVco (N = 14)	<i>P</i>
Mean age (mo)	17.6 ± 16.8*	10.5 ± 11.8	11.2 ± 12.2	16.9 ± 13.8	0.02; HMPV vs. RSV
<6	12 (25)[†]	41 (52)	23 (43)	2 (14)	0.014; HMPV vs. FluA
6-11	16 (33)	17 (22)	12 (23)	5 (36)	0.01; HMPV vs. RSV
2-23	5 (10)	10 (13)	12 (23)	4 (29)	
>23	15 (31)	11 (14)	6 (11)	3 (21)	
Gender (male)	25 (52)	47 (60)	32 (60)	5 (36)	NS
Mean no. of siblings	3.6 ± 2.4	3.9 ± 2.7	3.6 ± 2.9	2.5 ± 1.9	NS
Mean duration of breast-feeding (mo)	4.4 ± 5.6 (N = 44)	4.1 ± 5.8 (N = 70)	3.6 ± 4.3 (N = 52)	2.1 ± 1.9 (N = 14)	NS
History of prematurity	2/43 (5)	9/71 (13)	3/50 (6)	0/13 (0)	NS
History of asthma	13/47 (28)	17/76 (22)	9/52 (17)	4/14 (29)	NS

*Significant differences are highlighted in bold.

[†]Numbers in parentheses, percent.

FluA indicates influenza A; NS, nonsignificant.

TABLE 2. Comparison of Clinical Presentation and Findings in Children With HMPV, RSV, Influenza A and HMPVco Infection

Characteristic	HMPV (N = 48)	RSV (N = 79)	FluA (N = 53)	HMPVco (N = 14)	<i>P</i>
Temperature >38°C	35/42 (83)*	48/69 (70) [†]	43/48 (90)	11/13 (85)	0.01; Flu vs RSV
Cough	44/48 (92)	70/78 (90)	38/51 (75)	12/13 (92)	NS
URI	24/46 (52)	25/70 (36)	22/48 (46)	7/13 (54)	NS
Pharyngitis	6/46 (13)	16/76 (21)	18/53 (34)	1/14 (7)	0.01; HMPV vs. FluA 0.04; HMPVco vs. FluA
GI symptoms	20/47 (43)	19/69 (28)	19/47 (40)	9/13 (69)	0.004; HMPVco vs. RSV 0.08; HMPVco vs. HMPV 0.06; HMPVco vs. FluA
Otitis media	12/46 (26)	20/76 (26)	19/51 (37)	2/13 (15)	NS
Tachypnea	31/46 (67)	47/79 (60)	26/53 (49)	5/13 (39)	NS
Wheezing	26/47 (55)	45/77 (58)	13/52 (25)	5/13 (38)	0.002; HMPV vs. FluA <0.01; RSV vs. FluA
Prolonged expirium	18/47 (38)	36/76 (47)	11/53 (21)	5/14 (43)	0.05; HMPV vs. FluA 0.002; RSV vs. FluA
Rales	17/45 (38)	27/77 (35)	21/53 (40)	6/14 (43)	NS
Mean WBC/mm ³	14,090 ± 6112 (N = 47)	13,500 ± 5469 (N = 77)	13,288 ± 6331 (N = 52)	14,219 ± 4868 (N = 14)	NS
Oxygen saturation <94%	27/47 (57)	44/78 (56)	17/53 (32)	5/14 (36)	0.01; HMPV vs. FluA
Abnormal radiographic findings	41/47 (87)	64/76 (84)	34/42 (81)	13/13 (100)	NS
Infiltrates	31/47 (66)	38/76 (50)	22/42 (52)	10/13 (77)	NS
Air trapping	9/48 (19)	30/79 (38)	17/53 (32)	4/14 (29)	0.02; HMPV vs. RSV
Atelectasis	6/15 (40)	5/38 (13)	4/30 (13)	2/5 (40)	0.01; HMPV vs. FluA 0.03; HMPV vs. RSV

*Numbers in parentheses, percent.

[†]Significant differences are highlighted in bold.

FluA indicates influenza A; NS, nonsignificant; URI, upper respiratory infection; GI, gastrointestinal; WBC, white blood cells.


Bronchiolite

- Generalmente si auto-limita e può essere trattata a domicilio
- Ricovero riservato a bambini con $SaO_2 < 92\%$, cianosi, crisi di apnea o bradicardia, neonati pretermine, situazioni socio-ambientali sfavorevoli
- Più frequente causa di ospedalizzazione nel primo anno di vita

Epidemiologia

Tab. A: Ricoveri per bronchiolite o per virus respiratorio sinciziale nel primo anno di vita Italia 2002-2003

	2002		2003	
Diagnosi (ICD9-CM)	Numero ricoveri		Numero ricoveri	
Bronchiolite da VRS (466.11)	3394		2923	
Bronchiolite da altri agenti (466.19)	10.171		9277	
Polmonite da VRS (480.1)	116		74	
Virus respiratorio sinciziale (079.6)	50		21	

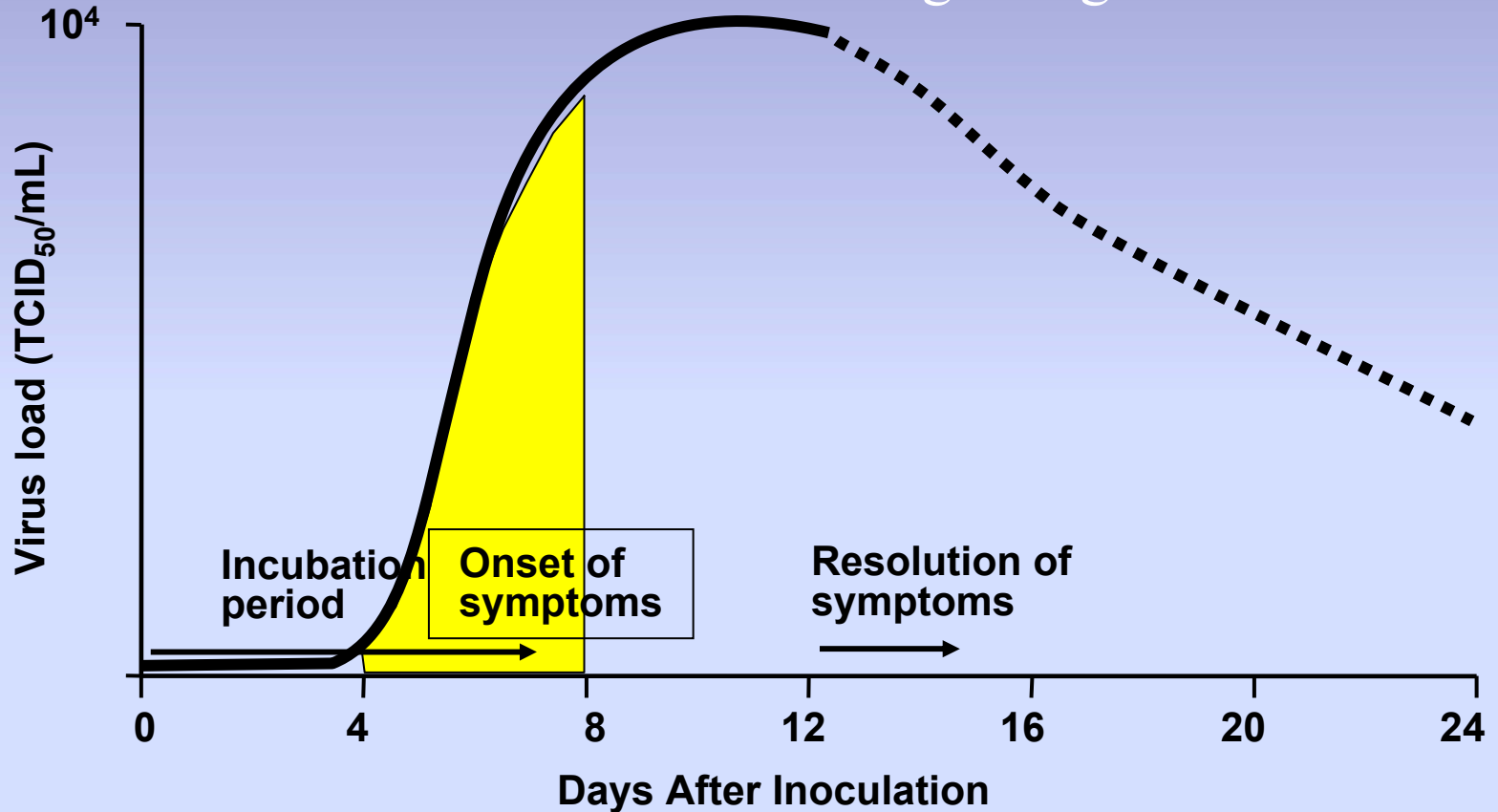

Tot. 13.731
26% RSV


Tot. 12.295
24.5% RSV

RSV

Altamente contagioso

Si diffonde con le secrezioni nasofaringee degli individui infetti

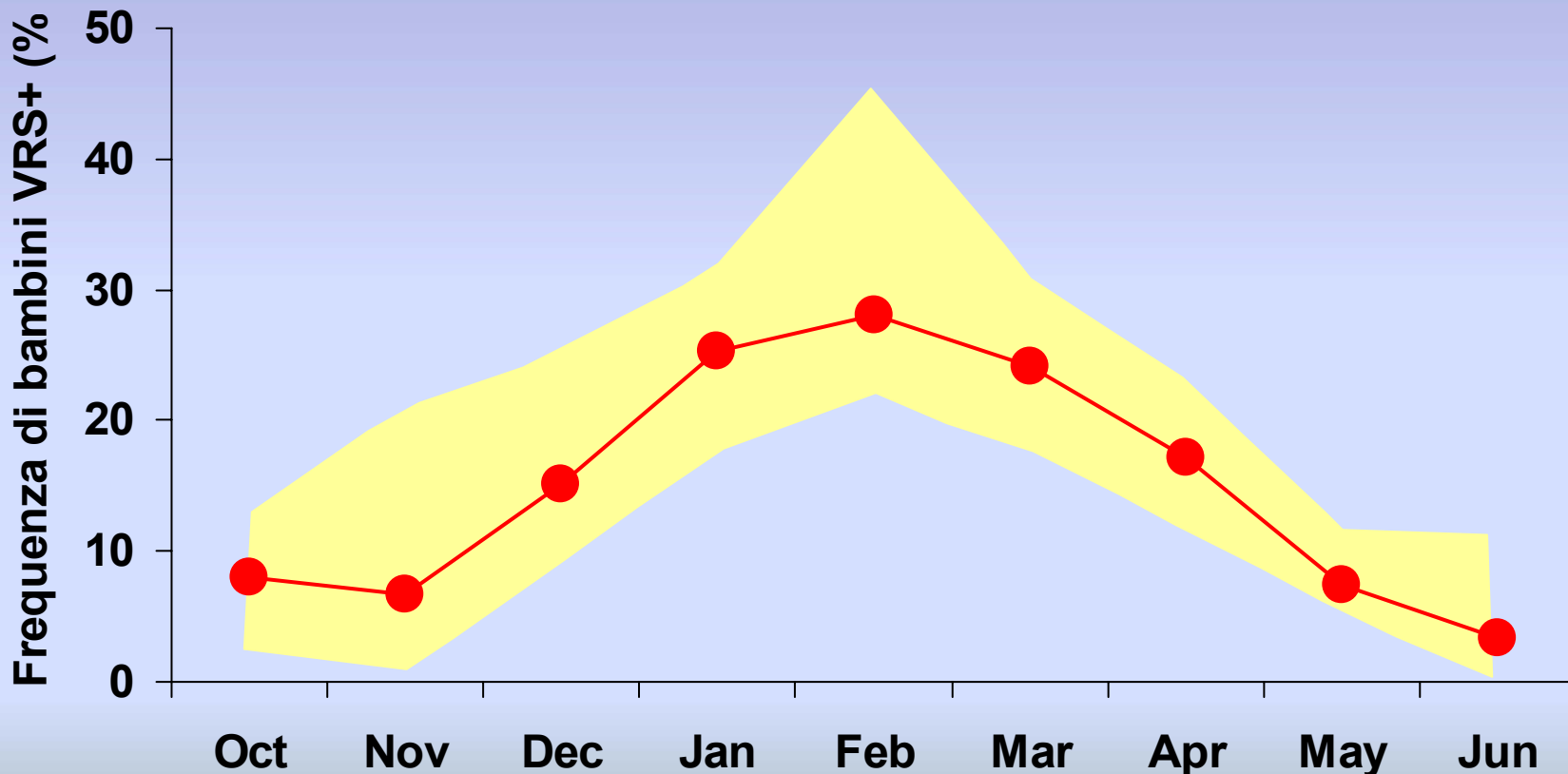


TCID₅₀/mL = tissue culture infectious dose for 50% of test units per milliliter

Epidemiologia del VRS in Italia

L'RSV è responsabile di *epidemie annuali*: nei paesi a clima temperato la maggioranza delle infezioni avviene in un *periodo di 22 settimane* compreso tra novembre e maggio, con un *picco* tra gennaio e febbraio

Studio Osservatorio VRS 2000-2004 (n=2.110)



Mediana (25° e 75° percentile)

Epidemiologia

- Il 90% dei pazienti sono infettati entro i 2 anni di vita e fino al 40% avrà infezione delle LRTI
- Il VRS non garantisce immunità permanente e reinfezioni sono frequenti
- Il 30% avrà wheezing ricorrente
- Tasso di Mortalità degli ospedalizzati è <1% nei bambini sani, ma ~3.5% in quelli ad alto rischio (CLD, CHD, etc.)

Fattori di rischio per lo sviluppo di grave infezione da RSV

- **Prematurità:** (<35 settimane e peso <2,5 Kg)
 - ⇒ < 2 anni ricoverati per bronchiolite l'RSV rappresenta l'agente eziologico nel 60% dei bambini < 33 settimane e nel 47,4% dei bambini > 35 settimane
- **Patologia polmonare cronica**
 - 59% dei bambini infettati ogni anno
 - 60% di essi viene ospedalizzato
- **Cardiopatie congenite**
 - 31% dei bambini infettati ogni anno
 - 54% di essi viene ospedalizzato

Fattori di rischio per lo sviluppo di grave infezione da RSV

- immunodeficienze
- patologie neuromuscolari severe
- malformazioni congenite delle vie aeree
- età inferiore a 6 settimane
- bambini sani con fattori di rischio “sociali”
- ospedalizzazione
- sesso maschile
- fratelli/sorelle più grandi in età scolare
- esposizione ambientale ad inquinanti aerei
- mancanza di allattamento materno

Opzioni terapeutiche



Non esiste attualmente un trattamento efficace della bronchiolite da RSV

LINEE GUIDA- *American Academy of Pediatrics –2006*

BRONCODILATATORI (salbutamolo): poche evidenze sui loro vantaggi. Attualmente l'atteggiamento più utilizzato è quello di somministrare inizialmente un broncodilatatore e proseguirne l'uso solo se, dopo la somministrazione, vi siano segni di miglioramento dei parametri respiratori

Non utilizzare di routine
(evidence level B, recommendation)

ADRENALINA: riservata alle forme più severe, maggiore efficacia rispetto al salbutamolo dovuta alla funzione anti-edema (effetto prevalentemente di tipo vasocostrittivo per azione sui recettori alfa)

Non utilizzare di routine
(evidence level B, recommendation)

CORTICOSTEROIDI : non sono raccomandati poiché non migliorano il quadro clinico e non agiscono sulla ricorrenza del broncospasmo

Non utilizzare di routine
(evidence level B, recommendation)

Opzioni terapeutiche

LINEE GUIDA- *American Academy of Pediatrics –2006*

RIBAVIRINA: <u>riservata alle categorie di pazienti ad alto rischio</u> poiché il suo uso non ha fornito i risultati attesi ed inoltre la somministrazione risulta difficoltosa (richiede attrezzature apposite come generatori di piccole particelle, filtri per ventilatore) e costosa	<i>Non utilizzare di routine</i> (evidence level B, raccomandation)
ANTIBIOTICI: <u>riservati ai pazienti con sovrainfezioni</u> (più frequenti UTI) e/o, otite media acuta (alta incidenza)	<i>Non utilizzare di routine</i> (evidence level B, raccomandation)
TERAPIA DI SUPPORTO: <u>reidratazione</u>	<i>Da valutare in ogni caso</i> (evidence level A, strong raccomandation)
TERAPIA DI SUPPORTO: fisioterapia toracica	<i>Non utilizzare di routine</i> (evidence level B, raccomandation)
TERAPIA DI SUPPORTO: ossigenoterapia indicata se $SatO_2 < 90\%$	<i>Da valutare in base a SatO₂</i> (evidence level D, option)

Immunoprofilassi passiva

- Tra le tecniche maggiormente utilizzate a causa della sua elevata tollerabilità ed efficacia vi è la somministrazione intramuscolare di *PALIVIZUMAB*:
 - ✓ anticorpo monoclonale umanizzato che si lega alla proteina F impedendo al virus di penetrare nella cellula
 - ✓ protegge da entrambi i ceppi virali A e B
 - ✓ è in grado di prevenire efficacemente l'infezione grave da RSV nei bambini prematuri con o senza broncodisplasia
 - ✓ 50-100 volte più potente delle RSV-IG e.v.
 - ✓ somministrazione mensile (novembre- marzo:15 mg/kg/dose, 5 dosi ad intervalli di 30 giorni)
 - ✓ non interferisce con le vaccinazioni

	Età gestazionale (settimane)								Malattia polmonare cronica		Cardiopatia	
	<26 sett.	≤28 sett.		29-32 sett.		< 32 sett.		33-35 sett.				
		< 6 mesi	≤ 12mesi	< 1000 g.	≤ 6mesi	< 3 mesi	<6 mesi	≤ 12 mesi	fattori rischio	≤1 anno		≤2 anni
Francia 2000						+					+	
Svezia 2001	+										+	
Israele 2001		+								+	+**	
Nuova Zelanda 2002				+							+	
USA 2003			+		+				+		+	+
Francia 2004												+
Italia 2004								+	+		+	+
Spagna 2005			+		+				+		+	+
Canada 2005							+				+*	+

legenda: + = profilassi suggerita o raccomandata; * comprende le raccomandazioni prodotte dallo stesso gruppo del 2003; ** solo se con ossigeno dipendenza

Nota: Le raccomandazioni prodotte prima del 2003 non contemplano indicazioni per la profilassi nei bambini affetti da cardiopatia, in quanto non era stata ancora dimostrata l'efficacia della profilassi in tale gruppo a rischio.

Vaccinazione: problematiche

- *risposta immunitaria incompleta*, soprattutto nei bambini < 6 mesi di età
- **necessità di somministrare il vaccino alla nascita**
- **presenza di anticorpi materni** che potrebbero inibire la risposta immunitaria al vaccino
- **necessità di conferire immunità verso entrambi i ceppi principali:** durante le epidemie circolano sia RSV-A sia RSV-B e non c'è correlazione tra ceppo e severità della patologia
- **capacità di RSV di modulare la risposta immunitaria:** ad esempio i geni NS1 e NS2 codificano proteine virali che inibiscono la risposta dell'ospite mediata da IFN α/β

Vaccinazione: problematiche

- **mancanza di modelli animali adeguati alla sperimentazione**

TABLE 1. Advantages and disadvantages of animal models of RSV disease

Characteristic of model
Ideal animal model: <ul style="list-style-type: none">Determines which antigens to use in vaccinesAllows optimization of route, dose, frequency, etc.Predicts effects of key genetic and environmental variablesAnticipates vaccine failures and adverse effects
Animal models can: <ul style="list-style-type: none">Allow study of complex biological systemsAllow controlled interventional experimentsTest genetic influencesIllustrate principlesGenerate hypotheses
Animal models cannot: <ul style="list-style-type: none">Give quantitative information about human responsesDetermine exactly which protective or pathogenic mechanisms operate in humansAccurately determine the effects of genetic variationsUsually anticipate adverse effects in humans

Vaccinazione: considerazioni generali

Il vaccino ideale dovrebbe:

- indurre una risposta immunitaria completa: attivazione di CD4⁺-Th1 e CD8⁺ e produzione di livelli protettivi di anticorpi neutralizzanti
- conferire immunità verso entrambi i ceppi principali A e B
- indurre una risposta immunitaria efficace anche in presenza di anticorpi materni
- non essere responsabile di aumentata gravità della malattia

Vaccinazione: problematiche

1966-1967: vaccinazione in USA di bambini di età compresa tra 2 mesi-9 anni con 2/3 dosi intramuscolari di FI-RSV, vaccino inattivato in formalina

In seguito all'esposizione al virus selvaggio:

- **vaccinati:** - *numero di infezioni non ridotto* → l'inattivazione con formalina aveva probabilmente provocato un'alterazione degli epitopi delle glicoproteine G e F di superficie → i soggetti vaccinati non presentavano anticorpi specifici di superficie e gli anticorpi circolanti presentavano ridotta attività neutralizzante
 - *ospedalizzazione nell'80% dei casi:* patologia più severa probabilmente per una alterazione della risposta immunitaria con una prevalenza di risposta mediata dai Th2
 - *decesso di 2 bambini* per broncopolmonite con atelettasia e pneumotorace
- **non vaccinati:** - *ospedalizzazione nel 5% dei casi*

1. Vaccini a subunità virali

- composti da antigeni F (PFP-1, PFP-2, PFP-3) o antigeni G di superficie o da polipeptidi di fusione contenenti gli epitopi F o G
- generalmente somministrati per via intranasale
- inducono produzione di anticorpi neutralizzanti nei soggetti sieropositivi per RSV ma non sono in grado di attivare la risposta cellulare citotossica
- per incrementare l'immunogenicità negli ultimi anni sono stati ipotizzati l'utilizzo dello Stafilococco come carrier e l'utilizzo di adiuvanti come la tossina modificata del colera

1. Vaccini a subunità virali

- **PFP-2** utilizzato per vaccinare donne nel terzo trimestre di gravidanza con i seguenti risultati :
 - aumento dei livelli anticorpali nel siero e nel latte materni
 - livelli di anticorpi 4 volte più elevati alla nascita, a 2 mesi e a 6 mesi di vita nei figli di madri trattate con il vaccino vs. figli di madri trattate con placebo
 - non differenze in frequenza e morbilità di infezioni respiratorie tra figli di madri trattate con il vaccino e figli di madri trattate con placebo
 - vantaggio preventivo limitato per i prematuri

Munoz FM et al. Safety and immunogenicity of respiratory syncytial virus purified fusion protein-2 vaccine in pregnant women. Vaccine 2003;21(24):3465-7

1. Vaccini a subunità virali

- **PFP-3** utilizzato per vaccinare bambini di età compresa tra 1-12 anni affetti da fibrosi cistica con i seguenti risultati:
 - ben tollerato
 - incremento pari a 4 volte del titolo anticorpale nel 67% e nel 55% dei pazienti rispettivamente verso RSV-A e verso RSV-B
 - riduzione lenta del titolo anticorpale che permette di mantenere una buona risposta immunitaria per tutta la durata della stagione epidemica
 - riduzione (anche se non significativa) degli episodi di infezioni delle basse vie respiratorie nei vaccinati rispetto ai controlli

1. Vaccini a subunità virali

- **BBG2Na:** vaccino ottenuto dall'unione tra il dominio centrale della proteina G di RSV-A ed il sito di legame per l'albumina della proteina G streptococcica → si è dimostrato *moderatamente immunogeno nei giovani adulti*, tuttavia gli studi sono stati interrotti nel 2003 in seguito alla comparsa di porpora in alcuni soggetti

Power UF et al. Safety and immunogenicity of a novel recombinant subunit respiratory syncytial virus vaccine (BBG2Na) in healthy young adults. J Infect Dis 2001;184(11):1456-60

- **Vaccino costituito dalle proteine purificate F, G e M da RSV-A:** somministrato per via intramuscolare a *giovani adulti sani* → incremento del titolo anticorpale sia verso RSV-A sia verso RSV-B, incremento transitorio con riduzione del titolo dopo un anno e conseguente necessità di immunizzazioni annuali

Girard MP et al. A review of vaccine research and development: human acute respiratory infections. Vaccine 2005;23(50):5708-24

2. Vaccini vivi attenuati

- **Ottenuti da mutanti a basse temperature e/o termosensibili** (incapaci di crescere a temperature elevate): *cp, ts, cpts*
- somministrati per via intranasale
- alcuni di questi vaccini si sono dimostrati sicuri ed immunogeni in adulti e bambini RSV-sieropositivi, altri hanno invece evidenziato una ripresa della virulenza dopo passaggio nell'uomo
- **vaccino Cpts 248/404** (*Wright PF et al. Evaluation of a live, cold-passaged, temperature-sensitive, respiratory syncytial virus vaccine candidate in infancy. J Infect Dis 2000;182(5):1331-42*):
 - lattanti > 6 mesi: produzione di IgG+IgA, immunogeno
 - lattanti < 6 mesi sieronegativi: produzione prevalente di IgA, protezione verso una seconda dose di vaccino somministrata dopo 2 mesi, associato a febbre e congestione delle alte vie respiratorie

Advantages	Disadvantages
Induces local and systemic immunity	Not sufficiently attenuated in seronegative children
Can be given multiple times	Prolonged replication at modest to high titers
Able to infect in the presence of maternal antibody	Some isolates lost their temperature-sensitive phenotype
	Transmission to unvaccinated contact 20 to 25%

3. Vaccini vivi attenuati geneticamente modificati (*vaccini a DNA*)

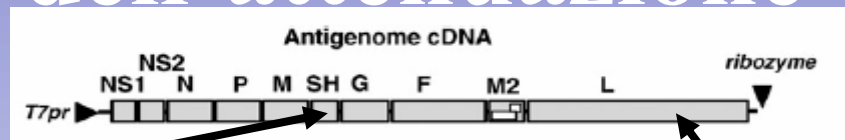
- nuova frontiera della vaccinazione contro l'RSV
- attraverso le tecniche di “reverse genetics” è possibile ottenere mutanti contenenti multiple mutazioni specifiche che siano
 - *maggiormente attenuati*
 - *geneticamente stabili*
 - *immunogeni*

TABLE 1. APPLICATIONS OF REVERSE GENETICS TO DEVELOPING A RESPIRATORY SYNCYTIAL VIRUS VACCINE

1. Develop a panel of defined attenuating mutations
 - a. Identify mutations in existing attenuated strains
 - b. Develop new mutations empirically
2. Assemble desired combinations of mutations
3. Increase genetic stability
 - a. Gene deletions
 - b. Increase the number of attenuating mutations
 - c. Choose “attenuating” codons that cannot readily revert
4. Increase the level of expression of the G and F protective antigens
 - a. Promoter-proximal G and F genes
 - b. The M2-2 deletion upregulates gene expression
5. Increased breadth of coverage against heterologous RSV strains with added or swapped genes

3. Vaccini a DNA

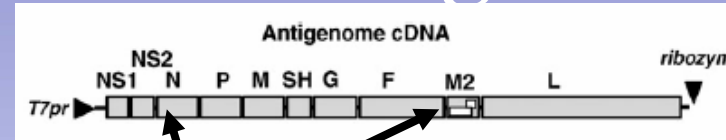
Incremento dell'attenuazione



- **DELEZIONE GENE SH:** maggiore attenuazione rispetto a *Cpts 248/404* nei modelli animali (scimpanzè) ma non nell'uomo
- **MUTAZIONE PUNTIFORME 1030 DEL GENE L** (associata a delezione gene SH): ben tollerato ed immunogeno anche nei bambini:
 - 6-24 mesi: risposta anticorpale sierica significativa nel 57% dei soggetti
 - 1-2 mesi: risposta anticorpale sierica significativa nel 19% dei soggetti, tuttavia netta riduzione della replicazione virale a seguito della somministrazione dopo 2 mesi di una seconda dose vaccinale. *Karron RA et al. Identification of a recombinant live attenuated respiratory syncytial virus vaccine candidate that is highly attenuated in infants. J Infect Dis 2005;191(7):1093-104*

3. Vaccini a DNA

Incremento del potere immunogeno



- **DELEZIONE DEL GENE M2-2:** riduzione della replicazione virale ed aumento della trascrizione genica con conseguente aumento dell'espressione di antigeni virali tra cui glicoproteina F e G
- **DELEZIONE DEI GENI NS1 e/o NS2:** codificano proteine virali che inibiscono la risposta dell'ospite mediata da IFN α/β
- **B/HPIV3:** virus parainfluenzale bovino (BPIV3) attenuato in cui i geni per glicoproteina F ed emoagglutinina-neuraminidasi HN derivano dal virus parainfluenzale umano (HPIV3)

Comparison of Human Metapneumovirus, Respiratory Syncytial Virus and Influenza A Virus Lower Respiratory Tract Infections in Hospitalized Young Children

ana G. Wolf, MD,* David Greenberg, MD,† Davina Kalkstein, MD,* Yonat Shemer-Avni, PhD,‡
 Noga Givon-Lavi, PhD,† Niveen Saleh, BSc,* Miri D. Goldberg, BSc,* and Ron Dagan, MD†
 (Pediatr Infect Dis J 2006;25: 320–324)

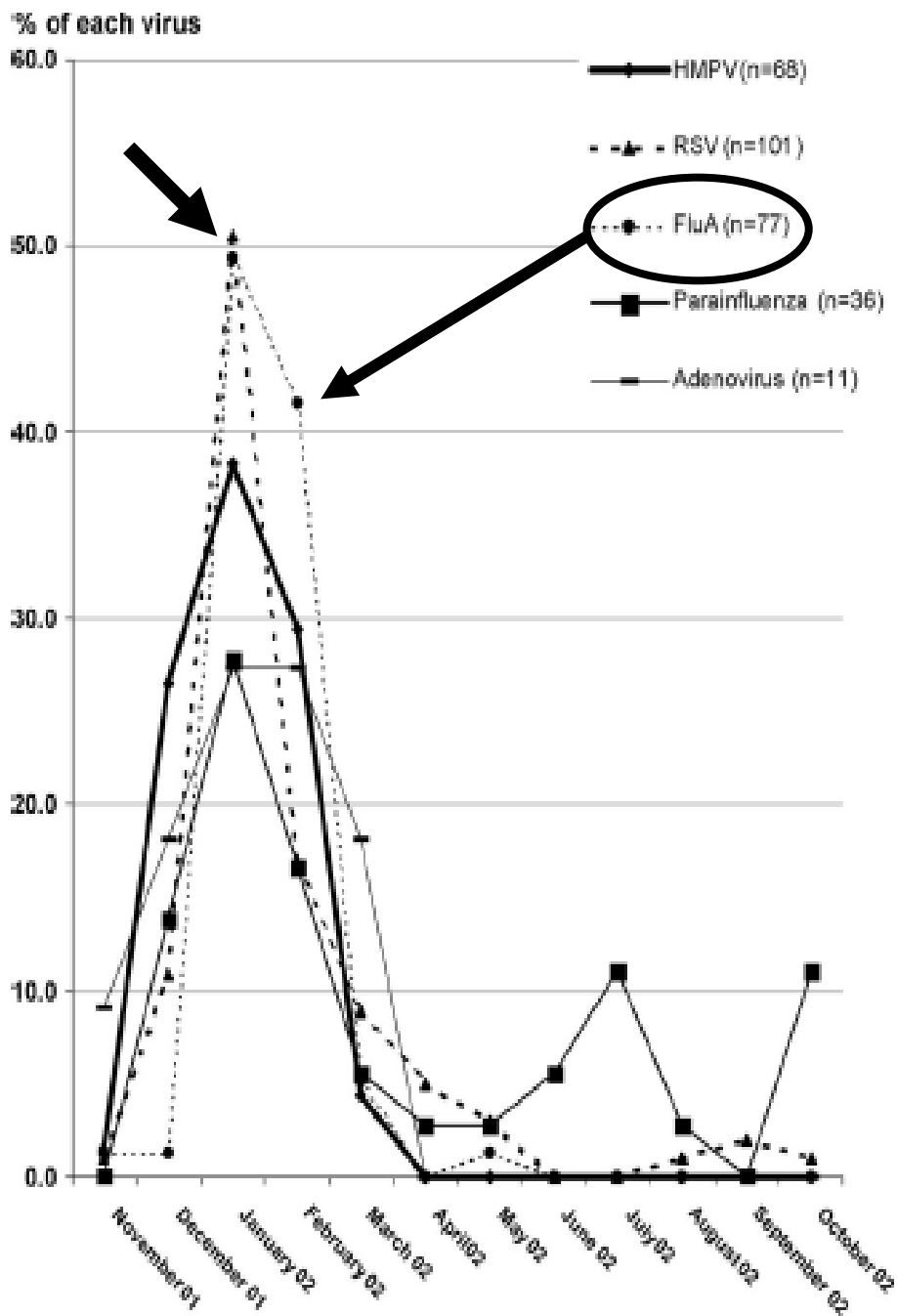
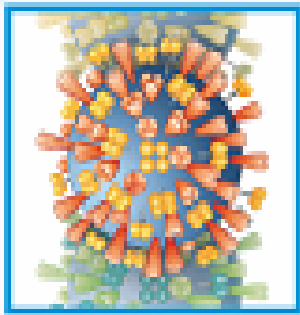
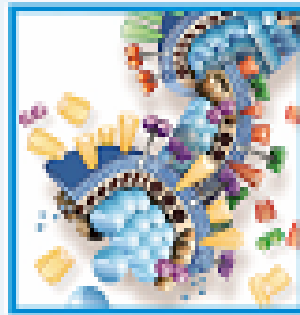
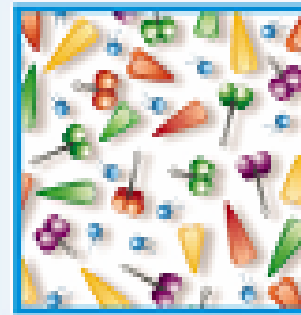
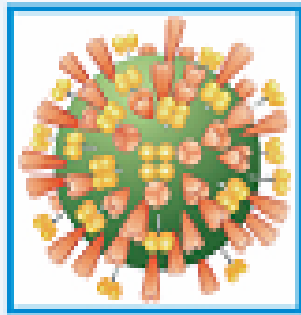


FIGURE 1. Temporal distribution of respiratory viruses among children hospitalized with lower respiratory tract infections from November 2001 through October 2002. Data are displayed as the proportion of each virus detected monthly.

	Conventional			Adjuvanted
				
	Whole Virus 1 st generation	Split Virus 2 nd generation	Subunit 3 rd generation	Virosomes as adjuvant and carrier new generation
Composition	all viral components whole virus particles	antigens HA, NA* lipid envelope, nucleoproteins fragmented virus	surface antigens HA, NA* purified surface antigens	purified surface antigens HA, NA* intercalated within phospholipid bilayer Virosomes
Antigen Presentation ⁹	optimal	suboptimal	suboptimal	simulating natural virus

In order to develop vaccines with optimal immunogenicity like the whole-virus vaccine, and with increased tolerability like the subunit vaccine, an **adjuvant** is often required.

Vaccinazione: considerazioni generali

Il vaccino ideale dovrebbe:

- **indurre una risposta immunitaria completa:**
attivazione di CD4⁺-Th1 e CD8⁺ e produzione di livelli protettivi di anticorpi neutralizzanti

VIROSOMES

