

I correlati immunologici di protezione indotti dalle vaccinazioni

a cura della Commissione Vaccini della SIAIP

Marta Luisa Ciofi degli Atti¹ (coordinatore)

Chiara Azzari², Giorgio Bartolozzi³, Susanna Esposito⁴,
Gaetano Maria Fara⁵, Franco Giovanetti⁶, Milena Lo Giudice⁷



Parole chiave: vaccini, immunogenicità, correlati sierologici protezione

Abstract

In questo articolo vengono descritti alcuni punti importanti per illustrare quale sia l'utilità dei correlati sierologici di protezione. Il principale vantaggio che deriva dalla presenza di tali correlati è infatti la possibilità di predire l'efficacia clinica di un vaccino, in base alla sua immunogenicità. I correlati vengono stabiliti durante i trial clinici, in cui viene confrontata l'incidenza di malattia osservata tra i vaccinati, con quella osservata tra chi non è stato vaccinato. Contemporaneamente, viene solitamente indagato se esiste una data risposta anticorpale indotta dalla vaccinazione che sia correlata alla protezione dall'infezione, dalle sue manifestazioni cliniche o da altri esiti specifici, definita come correlato sierologico di protezione. È importante tuttavia sottolineare che il correlato sierologico di protezione, di estrema importanza quando si considerano i risultati di studi clinici, non sempre può avere un valore informativo per il singolo individuo. Solo per alcuni vaccini, infatti, è possibile identificare una soglia anticorpale al di sopra della quale possiamo definire la persona vaccinata come protetta, indipendentemente dalla distanza di tempo che intercorre tra la vaccinazione e il dosaggio del titolo anticorpale.

Introduzione

Come è noto, prima dell'autorizzazione alla vendita di un vaccino, ne viene valutato il profilo di sicurezza, la risposta immune (immunogenicità) e l'efficacia clinica. In particolare, gli studi di efficacia richiedono la partecipazione di un largo numero di persone seguite per periodi di tempo variabili, nella maggior

parte dei casi di uno-due anni almeno. In questi studi, viene confrontata l'incidenza di malattia osservata tra i vaccinati, con quella osservata tra chi non è stato vaccinato. Contemporaneamente, viene solitamente indagato se esiste una data risposta anticorpale indotta dalla vaccinazione che sia correlata alla protezione dall'infezione, dalle sue manifestazioni cliniche o

¹ Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma; ² Ospedale Meyer, Università di Firenze; ³ Università di Firenze; ⁴ Dipartimento di Scienze Materno-infantili, Università di Milano, Fondazione IRCCS Cà Granda, Ospedale Maggiore Policlinico, Milano; ⁵ Sapienza Università di Roma; ⁶ ASL CN2 Alba Bra, Dipartimento di Prevenzione; ⁷ Pediatra di Famiglia, Palermo

martal.ciofidegliatti@opbg.net

Gli Autori dichiarano di non aver alcun conflitto rispetto agli argomenti trattati.

da altri esiti specifici. Tale risposta può essere definita come correlato sierologico di protezione¹. In questo articolo vengono descritti alcuni punti importanti per illustrare quale sia l'utilità di tali correlati e come si arrivi a definirli.

Quali vantaggi derivano dalla conoscenza dei correlati sierologici di protezione?

Il principale vantaggio che deriva dalla presenza di un correlato sierologico di protezione è la possibilità di predire l'efficacia clinica di un vaccino, in base alla sua immunogenicità.

Infatti, se il correlato sierologico di protezione indotto da un dato vaccino è noto, nuovi vaccini dello stesso tipo possono essere autorizzati all'uso in base ai risultati di studi di immunogenità. Questo accade se viene dimostrato che la percentuale di vaccinati che raggiunge un titolo anticorpale uguale o superiore alla soglia validata come correlato sierologico di protezione non è significativamente inferiore alla percentuale osservata per i vaccini già in commercio.

Il principale vantaggio della presenza di un correlato sierologico di protezione è la possibilità di predire l'efficacia clinica di un vaccino.

In particolare, l'OMS definisce come uno dei criteri per la valutazione della non-inferiorità dei nuovi vaccini, la dimostrazione che la percentuale di soggetti con risposta immune alla vaccinazione non sia inferiore di più del 10% rispetto alla percentuale di soggetti che rispondono al vaccino di riferimento².

È importante sottolineare che il correlato sierologico di protezione, di estrema importanza quando si considerano i risultati di studi clinici, non sempre può avere un valore informativo per il singolo individuo. Solo per alcuni vaccini, infatti, è possibile identificare una soglia anticorpale al di sopra della quale possiamo definire la persona vaccinata come protetta, indipendentemente dalla distanza di tempo che intercorre tra

la vaccinazione e il dosaggio del titolo anticorpale. È questo il caso delle vaccinazioni contro la difterite, il tetano, il morbillo e la rosolia¹.

Una situazione diversa è invece rappresentata dal vaccino contro l'epatite B. Sappiamo infatti che le persone che a distanza di 1-2 mesi dalla terza dose della vaccinazione anti epatite B hanno un titolo di anticorpi anti-HBs ≥ 10 mUI/mL sono protette verso l'infezione, mentre le persone con livelli anticorpali inferiori a questa soglia sono considerate come non protette³. Tuttavia, se la ricerca degli anticorpi anti-HBs viene effettuata ad una maggiore distanza di tempo dal completamento del ciclo vaccinale, chi ha un titolo < 10 mUI/mL non può essere definito come suscettibile. È noto infatti che il livello di anticorpi anti epatite B diminuisce con il passare del tempo dalla vaccinazione, ma anche chi ha bassi livelli anticorpali conserva la memoria immunologica indotta dal vaccino ed è verosimilmente protetto dall'infezione⁴.

Come si arriva a definire il correlato sierologico di protezione?

Come riportato nell'introduzione, è durante i trial clinici che solitamente si valuta la relazione tra risposta anticorpale alla vaccinazione ed efficacia clinica. Ad esempio, durante il trial clinico per valutare l'efficacia clinica verso le infezioni invasive del vaccino anti-pneumococco coniugato eptavalente, è stato confrontato il titolo anticorpale dei bambini vaccinati con quello dei bambini non vaccinati^{5,6}. Sono stati dosati i titoli degli anticorpi IgG rivolti verso i polisaccaridi capsulari (PRP) dei sette sierotipi di pneumococco inclusi nel vaccino. I risultati, illustrati in Figura 1, mostrano che quasi nessuno dei bambini non vaccinati aveva titoli anticorpali misurati con test ELISA compresi tra 0,15-0,50 $\mu\text{g/mL}$, mentre la quasi totalità dei vaccinati mostrava di aver raggiunto questi livelli. Era quindi presumibile che la soglia anticorpale corrispondente alla protezione clinica fosse compresa in questo range di valori.

Ulteriori valutazioni, condotte analizzando insieme i risultati di più studi, hanno portato l'OMS a raccomandare che la soglia anticorpale di 0,35 $\mu\text{g/mL}$ venisse utilizzata come misura principale per l'autorizzazione di nuovi vaccini coniugati contro lo pneumococco, e che questa soglia si applicasse a tutti i diversi sierotipi⁷. Veniva tuttavia sottolineato come tale soglia non costituisca necessariamente una evidenza di protezione a livello individuale, e che non dovrebbe essere

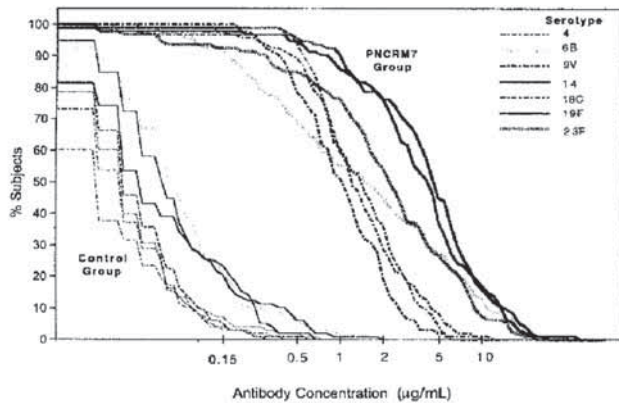


Fig. 1. Concentrazione anticorpale anti PRP in microgrammi per millilitri, in bambini vaccinati e non vaccinati con il vaccino coniugato anti-pneumococco eptavalente (da Siber et al., 2007⁹, mod.).

considerata da sola come l'unico punto per l'autorizzazione alla vendita.

Se un agente infettivo determina più quadri clinici, vi possono essere diversi correlati di protezione per ogni determinata localizzazione dell'infezione.

Inoltre, veniva riportato come i titoli anticorpali ELISA compresi tra 0,20 to 0,35 µg/mL correlino con titoli \geq 1:8 degli anticorpi misurati con il test di valutazione dell'attività opsonofagocitica (OPA), che a loro volta sono il miglior indicatore di efficacia clinica verso le infezioni invasive⁸. Come illustrato nel punto successivo, infatti, anche la metodologia utilizzata per valutare la risposta anticorpale e il tipo di anticorpi misurati è importante ai fini di una corretta interpretazione del correlato sierologico di protezione.

È interessante inoltre notare come, se un agente infettivo determina più quadri clinici, vi possano essere diversi correlati di protezione per ogni determinata localizzazione dell'infezione: per esempio il correlato sierologico di protezione per lo pneumococco riguarda la prevenzione

delle infezioni invasive, mentre la soglia anticorpale necessaria per prevenire malattie non invasive, come l'otite, o per la colonizzazione naso-faringea sembra essere maggiore⁹. Il correlato sierologico per questi esiti non è stato tuttavia ancora stabilito dall'OMS.

Come definire quali sono gli anticorpi che meglio correlano con l'efficacia clinica e quali test utilizzare per misurarli?

Un altro punto degno di nota è quale, tra gli anticorpi circolanti indotti da un dato vaccino, correli meglio con l'efficacia clinica. Per la determinazione del correlato immunologico di protezione, bisogna infatti individuare quale sia l'anticorpo che abbia il più elevato effetto protettivo e il cui dosaggio venga eseguito con la tecnica più standardizzata. Per i batteri capsulati, come il meningococco, lo pneumococco e l'emofilo, sono protettivi gli anticorpi IgG diretti verso il polisaccaride della capsula (PRP). Non tutti i metodi per dosare questi anticorpi sono tuttavia altrettanto validi. Ad esempio, per il vaccino coniugato anti-meningococco C è stato dimostrato che il test per la ricerca degli anticorpi anti-PRP con attività battericida (*serum bactericidal activity*; SBA) è il più indicato per definire il correlato sierologico di protezione. Si tratta infatti di un test che misura non solo la quantità di anticorpi, ma anche la loro funzionalità. Utilizzando tale metodica è stato possibile stabilire come soglia di protezione clinica un titolo \geq 1:8¹⁰.

Un altro meccanismo altamente protettivo è quello della opsonofagocitosi (OPA), cioè dell'induzione della fagocitosi dei batteri, ricoperti di anticorpi: il test di valutazione dell'attività opsonofagocitica degli anticorpi prodotti, fornisce una valida informazione della funzionalità degli anticorpi indotti dalla vaccinazione, ed è considerato come il miglior correlato di protezione clinica (soglia protettiva \geq 1:8). Per questo, un meeting coordinato dall'OMS nel 2008, dedicato ai criteri sierologici per la valutazione dei vaccini coniugati anti-pneumococco, ha proposto di porre maggiore enfasi sulla valutazione dei titoli OPA, in parallelo con i dati derivati dai test ELISA⁸. Il limite all'utilizzo del test OPA risiede tuttavia nella difficoltà di standardizzazione, e quindi di riproducibilità e confrontabilità dei suoi risultati. Visto che è stato dimostrato che i titoli anticorpali ELISA compresi tra 0,20 to 0,35 µg/mL correlano con titoli degli anticorpi OPA \geq 1:8, l'OMS raccomanda di includere dati riguardo il grado di correlazione tra questi due metodi nella documentazione presentata a suppor-

to dell'autorizzazione alla vendita di nuovi vaccini ⁸. Sempre per quanto riguarda i vaccini coniugati anti-pneumococco, va considerato che anche per il test ELISA, sono disponibili metodi diversi e i risultati ottenuti da laboratori differenti non possono essere direttamente confrontati. In particolare, il metodo ELISA di riferimento OMS riduce le probabilità di dosare anticorpi che non siano specifici della capsula polisaccaridica dello pneumococco, attraverso l'assorbimento con un polisaccaride della parete cellulare (CPS; test ELISA non-22F). Il metodo che prevede l'inibizione con il polisaccaride eterologo 22F mostrerebbe invece una migliore specificità dei risultati per quanto riguarda la correlazione con il test OPA, in particolare in presenza di titoli < 1 µg/mL ¹¹. Anche per i vaccini anti-varicella, vi sono diversi metodi di valutazione del titolo anticorpale indotto dalla

vaccinazione. Vengono infatti utilizzati sia un test ELISA (gp-ELISA), la cui soglia considerata protettiva è ≥ 5gp UI/mL, o un test di seroneutralizzazione basato su immunofluorescenza (FAMA), la cui soglia è ≥ 1:64 ¹².

Per determinare il correlato immunologico di protezione, bisogna individuare l'anticorpo con il più elevato effetto protettivo e il cui dosaggio venga eseguito con la tecnica più standardizzata.

Conclusioni

Ad oggi, conosciamo il correlato di protezione per molti agenti patogeni (Tab. I); il meccanismo immunitario che è alla base della protezione clinica varia tuttavia a seconda dell'agente eziologico, e non sempre l'immunità umorale rappresenta il principale strumento di difesa clinica verso l'infezione ¹³. Bisogna infatti considerare che alcuni agenti infettivi, in particolare i patogeni intracellulari, inducono principalmente una risposta degli anticorpi mucosali (IgA), e/o una risposta immune cellulo-mediata. In questi casi, quindi, può essere difficile definire quale sia la soglia protettiva di anticorpi circolanti. Per questo vi sono vaccini, quali l'antipertosse acellulare e i vaccini anti papillomavirus e rotavirus, per cui il correlato sierologico di protezione è ancora sconosciuto. Stabilire per ogni vaccino la soglia anticorpale protettiva è però un importante obiettivo di ricerca, perché consente di evitare di condurre, per ogni nuovo prodotto, studi clinici di vaste dimensioni e lunghi tempo di osservazione. Ogni volta che viene autorizzato alla vendita un nuovo vaccino, è d'altra parte indispensabile condurre una adeguata sorveglianza post-marketing, che consenta di monitorarne nel tempo l'efficacia sul campo.

Tab. I. Correlati sierologici di protezione per vaccinazioni. Adattata da Plotkin, 2008 ¹.

Vaccino	Test	Correlato di protezione
Tetano	Neutralizzazione della tossina	0,01-0,1 UI/mL
Difterite	Neutralizzazione della tossina	0,01-0,1 UI/mL
Poliomielite	Neutralizzazione	diluizione 1:4-1:8
Epatite B	ELISA	10 mUI/mL
Morbillo	Microneutralizzazione	120 mUI/mL
Rosolia	Immunoprecipitazione	10-15 mUI/mL
Pneumococco coniugato (malattie invasive)	ELISA OPA	0,20-0,35 µg/mL diluizione 1:8
Haemophilus influenzae tipo b coniugato	ELISA	0,15 µg/mL
Influenza	Inibizione dell'emoagglutinazione (HAI)	diluizione 1:40
Epatite A	ELISA	10 mUI/mL
Varicella	ELISA FAMA	≥ 5 UI/ml diluizione 1:64

Per approfondire

Carvalho L, Sun J, Kane C, et al. *Review series on helminths, immune modulation and the hygiene hypothesis: mechanisms underlying helminth modulation of dendritic cell function.* Immunology 2009;126:28-34.

Jackson JA, Friberg IM, Little S, et al. *Review series on helminths, immune modulation and the hygiene hypothesis: immunity against helminths and immunological phenomena in modern human populations: coevolutionary legacies?* Immunology 2009;126:18-27.

Cooke A. *Review series on helminths, immune modulation and the hygiene hypothesis: how might infection modulate the onset of type 1 diabetes?* Immunology 2009;126:12-7.

Bibliografia

- Plotkin SA. *Correlates of vaccine-induced immunity.* CID 2008;47:401-9.
- WHO Technical Report, 2004 - Annex 1 - *Guidelines on clinical evaluation of vaccines: regulatory expectations.*
- American Academy of Pediatrics. *Red Book: 2006 Report of the Committee on Infectious Diseases.* 27th ed. Elk Grove Village, IL: American Accademy of Pediatrics 2006.
- Jack AD, Hall AJ, Maine N, et al. *What level of Hepatitis B antibody is protective?* JID 1999;179:489-92.
- Black S, Shinefield H, Fireman B, et al. *Efficacy, safety and immunogenicity of heptavalent pneumococcal conjugate vaccine in children.* Pediatr Infect Dis J 2000;19:187-95.
- Rennels MB, Edwards KM, Keyserling HL, et al. *Safety and immunogenicity of heptavalent pneumococcal vaccine conjugated to CRM197 in United States infants.* Pediatrics 1998;101:604-11.
- World Health Organization. *“Recommendations for the Production and Control of Pneumococcal Conjugate Vaccines.”* Technical Report Series, No.927. Geneva: World Health Organization 2005, pp. 64-98.
- WHO/Health Canada Consultation on Serological Criteria for Evaluation and Licensing of New Pneumococcal Vaccines. Meeting Report 7-8 July 2008.
- Siber GR, Chang I, Baker S, et al. *Estimating the protective concentration of anti-pneumococcal capsular polysaccharide antibodies.* Vaccine 2007;25:3816-26.
- WHO Expert committee on biological standardization. *Clinical evaluation of group C meningococcal Conjugate vaccines.* WHO/BS/07.2065.
- Henckaerts I, Goldblatt D, Ashton L, et al. *Critical differences between pneumococcal polysaccharide enzyme-linked immunosorbent assays with and without 22F inhibition at low antibody concentrations in pediatric sera.* Clin Vaccine Immunol 2006;13:356-60.
- Public Health Agency of Canada. *Update on Varicella.* CCDR 2004:Volume 30.
- Edwards KM. *Development, acceptance and use of immunological correlates of protection in monitoring effectiveness of combination vaccines.* CID 2001;33(Suppl 4):S274-7.

Dichiarazione di conflitto d'interessi della Commissione Vaccini SIAIP.

	Ciofi degli Atti	Azzari	Bartolozzi	Esposito	Fara	Giovanetti	Lo Giudice
Azioni o stock options	-	-	-	-	-	-	-
Consulenze	-	GSK SPMSD	WYE	-	SPMSD	-	-
Compenso ricevuto per la redazione del presente materiale	-	-	-	-	-	-	-
Fondi di ricerca	-	-	-	NOVARTIS GSK WYE CRUCCELL	-	-	-
Compenso ricevuto per relazioni scientifiche o formazione	-	SPMSD	GSK WYE SPMSD	SPMSD WYE	SPMSD	SPMSD	SPMSD
Supporto spese congressi	NOVARTIS SPMSD	WYE	WYE	CRUCCELL WYE	-	WYE	SPMSD

CHI: Chiron; GSK: GlaxoSmithKline; SPMSD: Sanofi Pasteur MSD; WYE: Wyeth