



IMUNOTERAPIA ȘI IMUNOPROFILAXIA BOLILOR INFECȚIOASE

Formele imunizării artificiale:

- **Imunizare activă** – prin administrarea în organism a unor Ag microbiene (vaccinuri)
- **Imunizare pasivă** – bazată pe introducerea în organism a unor preparate ce conțin Ac specifici
- **Imunoprofilaxia** – o metodă specifică de prevenire colectivă sau individuală a bolilor infecțioase, ce are la bază crearea imunității artificiale specifice.
- **Imunoterapia** – metode specifice de tratament prin intermediul vaccinurilor, serurilor imune, etc.

- Primul vaccin – 1885 (contra rabiei, Louis Pasteur)
- În prezent – milioane de vieți salvate anual grație vaccinării contra 6 boli ale copiilor (difterie, tetanos neonatal, tuse convulsivă, tuberculoză, rujeolă, poliomielită). Aceste vaccinuri sunt administrate la 80% copii din toată lumea.
- Variola – boală eradicată în 1970, după 10 ani de la lansarea de OMS a campaniei mondiale de vaccinare.
- Următoarea boală – poliomielită

IMUNIZAREA ARTIFICIALĂ

- Prevenirea bolilor infecțioase depinde de **controlul** (sau eliminarea) **sursei de infecție** (aceasta prevede întreruperea lanțului de transmitere) și **ridicarea rezistenței** individuale (utilizarea apei potabile, alimentație sănătoasă, respectarea igienei personale, etc.).
- Cea mai eficientă strategie – **imunizarea artificială**.

- **Vaccinurile** sunt produse biologice cu proprietăți de imunogen, constituite din microorganisme vii sau omorâte, din componentele lor sau din toxine modificate. Fiind administrate la om sau animale induc o imunitate artificială activă – **IAA** - (umorală, celulară, mixtă) fără să provoace efecte nocive.
- Imunitatea postvaccinală (IAA) se instaură relativ lent, la 15-20 zile de la ultima inoculare, și durează timp variabil (luni-ani-toată viața).

- Dar... bolile infecțioase rămân un mare pericol – anual 13 mln de decese.
- Nu există (este imposibil de obținut) vaccinuri contra tuturor agenților patogeni
- Apariția mi/o noi, modificarea continuă a mi/o (HIV, HCV, virusul gripal...)
- O direcție nouă – elaborarea vaccinurilor contra cancerului.

- **Vaccinarea primară** (de bază) conferă organismului memorie imunologică. **Vaccinările de rapel** (**revaccinarea**) se utilizează pentru stimularea unui răspuns imun secundar, mai rapid și mai intens
- **Calitățile unui vaccin ideal:**
 - Imunogenitate înaltă
 - Lipsit de efecte secundare
 - Ușor disponibil
 - Stabil
 - Ieftin
 - Simplu la administrare și eficace (să creeze imunitate stabilă de lungă durată)

Clasificarea vaccinurilor

- **TRADIȚIONALE (clasice)**
 1. Corpusculare (vii atenuate, inactivate)
 2. Subunitare (vaccinuri chimice, anatoxinele)
- **DE PERSPECTIVĂ**
 1. Sintetice
 2. Ribosomale
 3. Anti-adezive
 4. Recombinante
 5. Vaccinuri hibride
 6. Vaccinuri nucleotidice

C. Atenuarea dirijată a virulenței prin:

- **Factori fizici** (cultivarea la t° neadequate – vaccinul anti-antrax (42° C), vaccinul anti-pestos (16° C))
- Cultivarea în prezența unor **compuși chimici** nefavorabili (ex.: BCG – obținut de Calmette și Guerin prin cultivarea tulpinii de *Mycobacterium bovis* timp de 13 ani pe medii cu bilă)
- Prin **factori biologici** – pasaje multiple pe animale sau pe culturi celulare (Pasteur a efectuat 133 pasaje a suspensiei de creier de la câine turbat intracerebral iepurilor, obținând un virus atenuat)
- Prin **inginerie genetică** (inactivarea genelor de patogenitate - **mutații** la nivelul genelor de patogenitate)

- **Eficiența vaccinării depinde de:**
 - Calitățile imunogene ale vaccinului
 - Durata persistenței vaccinului în organism
 - Capacitatea organismului vaccinat de a elabora răspuns imun eficient

- **Vaccinurile vii atenuate** reprezintă tulpini de bacterii sau virusuri vii cu virulența redusă, dar cu capacitate imunogenă păstrată.

Căile de obținere

A. Selectia tulpinilor naturale cu virulența redusă

- Vaccinul E (contra tifosului exantematic)
- Vaccinul EV (anti-pestos)
- Vaccinul Brucella N19 (antibrucelos)

B. Utilizarea mi/o înrudite genetice, avirulente pentru specia umană

(ex.: virusul vacciniei utilizat în profilaxia variolei)

Alte vaccinuri vii atenuate: *anti-tularemic, anti-poliomielitic, anti-gripal, anti-rujeolos, anti-rubeolic, anti-parotidită epidemică, etc.*

Avantajele vaccinurilor vii:

- Imunogenitate înaltă, o inoculare unică induce imunitate solidă și de lungă durată
- Se administrează pe cale naturală (intranazal, per os, percutan, etc)
- Induce imunitate locală și generală

Dezavantaje:

- Pot provoca complicații postvaccinale (accidente alergice, efect teratogen)
- Revenirea la forma virulentă cu riscul bolii infecțioase induse (ex.: poliomielită paralytică, etc)
- Pericol de inducere a bolii la persoane cu imunodeficiențe (BCG-ita, etc)
- Multiple contraindicații
- Durată de păstrare limitată

- **Autovaccinul** este un vaccin inactivat preparat din tulpina microbiană izolată de la un bolnav și inoculat aceluiași bolnav pentru stimularea imunității specifice.
- Autovaccinul este indicat pacienților care suferă de procese cronice: stafilodermii, streptodermii, candidoze, dizenterie cronică, etc

Obținerea vaccinurilor inactivate și a autovaccinului – în **Ghidul practic**

- **Vaccinurile subunitare (acelulare, chimice)** constau din componente antigenice majore, capabile să inducă un răspuns imun protector, extrase prin diferite metode din celulele bacteriene (digestie enzimatică, hidroliză cu acidul tricloracetic, etc)

Ex.: vaccinul anti-pneumococic, anti-meningococic, anti-hemofilus (conțin polizaharide capsulare), etc.

- **Vaccinurile inactivate (omorâte)** constau din culturi bacteriene sau virale înalt virulente inactivate prin căldură (60° C – 1 oră), prin agenți chimici (formaldehidă, fenol, acetona), radiații, ultrasunet, etc.

Exemple de vaccinuri inactivate: anti-tifoidic, anti-dizenteric, anti-choleric, anti-pertusic, anti-stafilococic, anti-gripal, anti-poliomielitic, etc.

- **Avantajele vaccinurilor inactivate:**

- Exclud riscul infecției post-vaccinale
- Stabile la păstrare

- **Dezavantaje:**

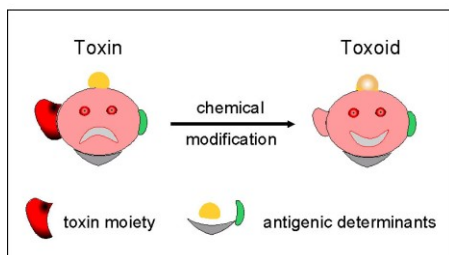
- Imunogenitate redusă (sunt necesare inoculări repetate)
- Durată limitată a imunității 6 – 12 luni
- Eficacitate variabilă
- Necesitatea unei concentrații mari de Ag
- Administrarea prin injecții (stimulează slab sau deloc imunitatea locală)

- **Anatoxinele** sunt vaccinuri subunitare obținute din exotoxine bacteriene.

Etapele de obținere a anatoxinelor

1. Cultivarea tulpinii toxigene în mediu lichid
2. Separarea exotoxinei prin filtrare
3. Tratarea cu formol 0,3-0,4 % timp de 3-4 săptămâni la 39-40° C. Toxinele pierd toxicitatea, dar își păstrează capacitatea imunogenă
4. Purificarea anatoxinei (salinizare cu săruri de amoniu, precipitare cu alcool...)
5. Concentrarea
6. Determinarea puterii anatoxinei în RN (floculare) cu seruri antitoxice specifice

Modification of Toxin to Toxoid



- Anatoxinele se utilizează în profilaxia specifică a infecțiilor cauzate de mi/o toxigene stimulând producerea antitoxinelor.

Exemple de anatoxine: difterică, tetanică, gangrenoasă, botulinică, holerică, stafilococică, etc.

Avantajele vaccinurilor subunitare:

- sunt lipsite de efecte secundare
- stabilitate la păstrare

Dezavantaje – imunogenitate redusă, necesitatea inoculărilor repetate

- Pentru sporirea imunogenității vaccinurilor inactivate și subunitare se utilizează substanțe speciale - **adjuvanți**.
- I. **Adjuvanții minerali** (hidroxidul de Al, fosfatul de Ca, emulsii uleioase) generează o reacție inflamatoare care reține eliminarea Ag și favorizează prezentarea lui limfocitelor T
- II. **Adjuvanții biologici** (unele bacterii: *Bordetella pertussis*, *Corynebacterium parvum*, *Mycobacterium tuberculosis*, sau componente bacteriene – ex. *ribosomi bacterieni*) induc expresia moleculelor de co-stimulare pe suprafața CPA, stimulând aceste celule să secrete citokine care vor activa limfocitele T.

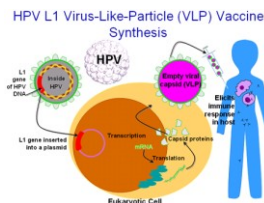
Strategii vaccinale noi (vaccinuri de perspectivă)

- I. **Vaccinuri sintetice**: se obțin prin sinteza polipeptidelor ce reprezintă epitopii liniari (ex.: *toxina cholerică*, *virusul poliomieltic*). Sunt lipsite de efecte secundare. Dezavantaje: dificil de identificat epitopii, imunogenitate foarte redusă.
- II. **Vaccinuri ribosomale** (Ag adsorbite pe ribosomi din tulpina de *Mycobacterium bovis* din vaccinul BCG)
- III. **Vaccinuri anti-adezive** (din fimbrii sau mucopolizaharide de adeziune). Administrate pe mucoase stimulează imunitatea locală (slg A)

Ex.: vaccinul antidizenteric, antipertusic

IV. **Vaccinuri recombinante** (vaccinuri moleculare, sub-unitare): gene ce codifică polipeptide imunogene sunt integrate prin intermediul unor vectori (plasmide, fagi moderați) în cromosomul unor levuri, bacterii sau celule animale, care vor produce polipeptidul vaccinant (ex.: *vaccinul anti-hepatită B*, *anti-gripal*)

V. **Vaccinuri constituite din vectori infecțioși recombinanți (vaccinuri hibride)**. Se obțin prin inserția unor gene ce codifică Ag vaccinante (epitopi) în genomul unui vector viral sau bacterian, care ulterior se inoculează la persoanele imunizate.



Vectorii nu sunt patogeni, dar sunt capabili să se multiplieze un timp îndelungat în organism, inducând un răspuns imun mixt (umoral și celular) contra produsului genei inserate și contra vectorului.

Ex.: *vaccinuri contra hepatitei B, rujeolei, infecției herpetice tip 1 (vectori – virusul vacciniei, adenovirusuri).*

Sunt în studiu vaccinurile contra hepatitei B și tetanosului, în calitate de vectori servind salmonele (*S.Typhimurium*, *S.Typhi*), vaccinul recombinant HIV-rujeola, HIV-BCG, vaccinuri anticancer.

VI. Imunizarea genetică, bazată pe utilizarea ADN microbial (**vaccinuri nucleotidice**).

Constă în imunizarea persoanelor cu ADN ce codează un Ag microbial inserat într-o plasmidă bacteriană. Plasmida este captată de CPA ale gazdei și Ag este produs în interiorul CPA cu stimularea ulterioară a limf T și inducerea imunității celulare.

Gena ce codifică Ag vaccinant este introdusă în unele celule ale organismului (ex.: celule musculare). Administrarea se face i/m sau prin "bombardarea" cu particule a tegumentului. ADN patrunde în celula musculară care va sintetiza ulterior Ag. Se induce un răspuns imun umoral și celular puternic și de lungă durată.

Se află în testare vaccinuri contra HIV și gripei, contra hepatitei B.

Avantaje: ieftine, eficiente, lipsite de riscuri post-vaccinale
Temeri: mutații oncogene, răspuns imun anti-ADN

Indicațiile vaccinărilor

- **Vaccinări generale**, conform **calendarului de vaccinări** (în Caietul pentru lucrări de laborator). Sunt specifice pentru fiecare țară și sunt obligatorii.
- **Vaccinări selective** (contingente de risc, situație epidemică, etc)

Vaccinurile sunt utilizate cu scop de imunoprofilaxie, uneori pentru terapia infecțiilor cronice (bruceloză, dizenterie, gonoree, stafilo-, streptodermii)

O variantă a vaccinurilor hibride reprezintă utilizarea anvelopelor virale vide (goale) sau a anatoxinelor pentru delivrarea Ag străine și prezentarea lor celulelor imunocompetente (**sisteme de delivrare și prezentare a antigenelor**). Aceste sisteme nu se multipliează în organism (vectori ne-replicativi), fiind inofensivi și în același timp foarte imunogeni.

- În funcție de nr Ag din componența unui vaccin se disting:
 - **Vaccinuri monovalente** (anatoxina botulinică A, sau B, sau C...)
 - **Vaccinuri polivalente** (anatoxina botulinică polivalentă ABCDEF)
 - **Vaccinuri complexe**, compuse din Ag provenite din specii microbiene diferite (DT, DTP, TABTe)
 - **Vaccinuri adsorbite** (deponente, conjugate) – au Ag fixate pe adjuvanți (AD, ADT, ADTP, etc)

- **Imunizarea artificială pasivă** se realizează cu preparate biologice ce conțin Ac (seruri imune, Ig, gamma-globuline, etc), utilizate cu scop de seroterapie sau seroprofilaxie.
- Imunitatea artificială pasivă se instalează imediat după administrarea preparatului, fiind limitată în timp (max. 3 săptămâni).
- Din momentul în care Ac exogeni sunt eliminați, organismul redevine receptiv la infecție.

- **Serurile imune** sunt preparate biologice ce conțin Ac specifici față de diferiți agenți patogeni și produse ale acestora.

- După **proveniență** există:

1. Seruri imune omologe

- De la convalescenți
- De la voluntari imunizați activ (seruri hiperimune, specifice)
- Din sângele donatorilor și sânge placentar (seruri standarde, normale)

2. Seruri imune heterologe, obținute prin hiperimunizarea animalelor (cai, cămile, lame)

Avantaje: titru dozat de Ac, lipsa pericolului de infectare cu HIV, virusuri hepatice, etc

Dezavantaje:

- Sunt eliminate mai rapid (aprox. 7 zile)
- Conținând proteine străine, produc sensibilizarea organismului

- **Serurile imune native** conțin pe lângă Ig și alte proteine ale sângelui (albumine) responsabile de reacții alergice.

- **Serurile imune purificate și concentrate** sunt lipsite de albumine, care sunt eliminate prin procedee speciale (precipitare cu sulfat de amoniu, prin digestie enzimatică, electroforeză)

Avantajele serurilor omologe:

- Nu provoacă sensibilizarea organismului
- Asigură o protecție de durată maximă (aprox. 30 zile)

Dezavantaje:

- Pericolul transmiterii virusurilor hepatice, HIV, etc
- Titruri variabile de Ac
- Volum limitat

- După **modul de acțiune** se disting:

1. **Seruri antibacteriene** (anti-meningococic, anti-antrax), ridică sensibilitatea bacteriilor la acțiunea fagocitelor și complementului. Se dozează în ml (*seruri netitrate*)
2. **Seruri antivirale** (ex.: ser anti-rabic). Neutralizează infecțiozitatea virusurilor.
3. **Seruri antitoxice** (anti-difteric, anti-tetanic, anti-botulinic, etc). Neutralizează exotoxinele bacteriene (blochează fixarea de receptorii celulari). Activitatea lor este apreciată prin titrare și măsurată în UA (UI).
4. **Seruri mixte** (ex.: antigangrenos)

- **Imunoglobulinele (gamma-globulinele)**. Se obțin din seruri omologe rafinate prin procedee care extrag numai gamma-globulinele și realizează o concentrație a Ig de 15-20 ori față de serul nativ.
 - **Ig normale** sunt extrase din amestecuri de plasmă de la sute-mii de donatori sau sânge placentar. Se utilizează în seroprofilaxia rujeolei, hepatitei A și în terapia pacienților cu deficit umoral primar.
 - **Ig hiperimune (specifice)** se obțin din seruri de convalescenți sau ale persoanelor imunizate (Ig anti-antrax, Ig anti-leptospirozică)

- **Căile de administrare** – intramuscular, intravenos.
- **Modul de administrare**
 - **Serurile imune omologe, Ig** se administrează în doză unică fără precauții
 - **Serurile heterologe**, administrate parenteral, pot provoca reacții adverse (reacții anafilactice, boala serului, febră). *Cauza:* albuminele se comportă ca un alergen.

- **Dacă testul este negativ** (peste 20-30 minute reacție locală până la 9 mm) se introduce subcutan a doua doză de 0,1-0,5 ml de ser nediluat. Peste 30-60 minute în lipsa reacției se recurge la introducerea întregii doze curative.
- **Dacă testul este pozitiv** (reacție locală peste 10 mm) există pericolul reacțiilor alergice.

- În caz de necesitate administrarea serului va fi însoțită de administrarea preparatelor anti-histaminice sau serul va fi administrat sub narcoză (scoaterea din funcție a scoarței cerebrale).
- **Cerințele față de preparatele biologice ce conțin Ac:**
 - Sterilitate
 - Inofensivitate
 - Apirogenitate
 - Aviditate înaltă
 - Activitate de lungă durată

- **Combaterea reacțiilor serice:**

1. *Utilizarea serurilor imune purificate și concentrate*
2. *Utilizarea Ig (gamma-globulinelor)*
3. *Anamneza pentru recunoașterea unei eventuale stări de sensibilizare*
4. *Efectuarea testării pentru depistarea sensibilității la serul heterolog. În acest scop se utilizează testul intradermic cu 0,1 ml din diluția 1:100 a serului prescris.*

În acest caz se recurge la **metoda de desensibilizare acută**, propusă de **Besredca**. Ea constă în administrarea repetată, la interval de 20 min., a dozelor crescânde din serul respectiv, la început diluat 1:100 subcutan, trecându-se treptat la ser nediluat intramuscular.

Mecanismul: la introducerea dozelor mici de ser se evită acumularea cantităților mari de substanțe biologic-active (histamină, serotonină, bradikinină, etc), responsabile de declanșarea anafilaxiei.