

VACCINURILE. AUTOVACCINURI. METODE DE OBTINERE

Vaccinurile sunt produse biologice prin care se obține o *imunizare artificială activă* contra unor boli infecțioase sau toxine microbiene.

Patru calități de bază se cer unui vaccin: eficiență, inocuitate, stabilitate și cost accesibil.

Eficiența vaccinării presupune:

- calități imunogene verificate ale vaccinului;
- capacitatea organismului vaccinat de a elabora răspuns imun;
- un interval de timp suficient pentru apariția anticorpilor protectori și formarea clonului limfocitar cu memorie, care, la un nou contact cu antigenul, să realizeze expansiunea rapidă caracteristică răspunsului imun secundar.

Inocuitatea. Un vaccin trebuie să fie inofensiv, să nu producă suferințe persoanelor vaccinate. Suferințe postvaccinale pot fi acceptate numai dacă acestea sunt minime sau apar cu frecvență semnificativ mai redusă decât cele individuale sau colective, produse prin evoluția naturală, spontană, a bolii infecțioase respective. Prin urmare, inocuitatea se apreciază sub *raport risc—beneficiu*.

Stabilitatea pe durata preparare—administrare este esențială mai ales pentru vaccinurile vii atenuate, care impun un lanț de facilități frigorifice atunci când distanțele dintre producător și unitățile în care se administrează vaccinul sunt mari.

Costul vaccinului este un aspect foarte dificil, mai ales pentru țările care dispun de bugete limitate pentru sănătatea publică. Administrarea individuală sau generalizată a unui vaccin trebuie apreciată în *termeni de cost—eficiență*. Pentru vaccinările generalizate trebuie să dispunem de vaccinuri cât mai ieftine. O vaccinare care costă 80 \$, cum este cea contra hepatitei B, rămâne prohibitivă pentru multe țări și se aplică numai selectiv sau electiv, chiar și în țările bogate.

12.1. TIPURI DE VACCINURI

12.1.1. Vaccinurile vii atenuate

Vaccinurile vii atenuate sunt tulpini microbiene selectate pentru capacitatea lor imunogenă în condițiile unui nivel redus și stabil al virulenței.

Metodele de atenuare a virulenței:

1. *Metode clasice:*

- *Vaccinuri heterologe.* Un excelent asemenea vaccin a fost virusul vaccinal (agentul vaccinei vacilor) folosit ca vaccin antivariolic până la eradicarea acestei boli.

■ *Modificarea condițiilor de creștere a unui microorganism.* Primele vaccinuri atenuate antibacteriene au fost preparate de Louis Pasteur prin cultivarea bacilului holerei găinilor și a bacteridiei cărbunoase la temperaturi mai mari decât temperatura optimă de creștere. A. Calmette și C. Guérin au atenuat complet virulența unei tulpini de *Mycobacterium bovis* după 230 repicări neîntrerupte, timp de 13 ani, începând din 1908, pe mediul cu cartofi biliați glicerinat 5%. Această tulpină atenuată sub acțiunea bilei, numită BCG (bacilul lui Calmette și Guérin) este actualul vaccin antituberculos. Prin selecție după mutageneză chimică a fost obținută o tulpină atenuată de *Salmonella typhi* utilizată ca vaccin viu.

Virusologii au recurs la două metode principale de selecție a mutațiilor virali atenuați: pasaje seriate în culturi de celule *in vitro* și adaptarea la temperaturi mai mici decât temperatura optimă de cultivare.

Prin pasaje seriate în culturi de celule au fost atenuate tulpinile virusurilor: poliomielitice, rujeolic, rubeolic, al parotiditei epidemice, al febrei galbene și al hepatitei A, care se folosesc astăzi ca vaccinuri.

Adaptarea la rece este în fond selecția mutațiilor de virus gripal sau a altor virusuri respiratorii capabile să cultive la 25°C. Asemenea tulpini de virus gripal pot fi utilizate ca vaccin pentru că sunt replicate la temperaturi sub 32–34°C, temperatura căilor respiratorii superioare, dar nu infectează căile respiratorii inferioare unde sunt 37°C.

2. *Metodele moderne* sunt aplicate în fază experimentală.

■ Unele folosesc *ingineria genetică* pentru a forma recombinanți ai virusului vaccinal cu gene care codifică glicoproteine de înveliș viral (e. g. hemaglutinina virusului gripal).

■ Altele urmăresc *mutanți cu deleția principalei gene de patogenitate* (e. g. mutant de poliovirus tip 2 cu o singură bază modificată, mutant de *Vibrio cholerae* cu pierderea genelor care codifică polipeptida A a toxinei).

Avantajele vaccinurilor vii atenuate. La persoanele normoreactive produc o infecție inaparentă cu multiplicarea tulpinii vaccinate în organele și țesuturile țintă (epiteliul respirator, intestin etc.) sau cu inducerea unei infecții latente. De aceea vaccinurile atenuate produc, în general, după o singură inoculare, o imunitate eficientă (constituirea barierei imune prin stimularea anticorpilor IgA secretori, stimularea eficientă a imunității celulare) și de durată.

Efectul vaccinării poate fi amplificat prin pasajul tulpinii vaccinante între membrii colectivității (e. g. vaccinurile administrate pe cale orală sau prin inhalare).

Prin toate aceste calități vaccinurile vii atenuate sunt mai ieftine decât cele inactivate.

Dezavantajele vaccinurilor vii atenuate:

■ *Mutația reversă* la forma virulentă. Poate fi exclusă dacă tulpina vaccinantă a fost atenuată prin mai multe mutații.

■ *Riscul encefalitei* după vaccinarca antirujeolică este evident mai redus decât după infecția naturală.

■ *Riscul bolii infecțioase* postvaccinale este controlat prin respectarea contraindicațiilor particulare vaccinurilor atenuate (vezi mai jos).

12.1.2. Vaccinurile omorâte

Vaccinurile omorâte sunt suspensii microbiene inactivate prin agenți chimici (β -propiolactonă, formaldehidă, fenol și acetonă) sau prin căldură. Fiind omorâte, elimină riscul infecției postvaccinale. Au însă dezavantajul imunogenității mai reduse, care impune injectarea mai multor doze.

12.1.3. Vaccinurile cu componente microbiene purificate

Anatoxinele (toxoizii) sunt toxine proteice care, prin tratare cu formol la cald, pierd toxicitatea, dar își păstrează imunogenitatea (e. g. anatoxina tetanică, difterică etc.).

Polizaharidele capsulare bacteriene (e. g. pneumococi, meningococi, *Haemophilus influenzae* tip b), *lipopolizaharidul* bacililor gramnegativi, *antigenul de suprafață* al virusului hepatitei B (AgHBs), glicoproteina virusului stomatitei veziculare, glicoproteina D a virusului herpes simplex.

În general trebuie evitată prezența antigenilor care pot produce sensibilizări sau pot interfera răspunsul imun față de antigenul vaccinat.

Ca orice vaccin inert, impun administrarea de doze repetate. Imunogenitatea lor poate fi ameliorată prin asociere cu *adjuvanți imunologici* (fosfat și hidroxid de aluminiu, ulei de arahide, de cocos, poliribonucleotide sintetice).

Unele polizaharide bacteriene sunt haptene neimunogene și nu au putut fi mult timp folosite ca vaccinuri. Așa este polizaharida capsulară de *H. influenzae*. A fost obținut însă un valoros bivalent prin cuplarea polizaharidei serovarului b, invaziv, de *H. influenzae* cu anatoxina tetanică (proteină *carrier*).

12.1.4. Antigeni vaccinanți produși prin inginerie genetică sau sinteză polipeptidică

Pe măsura identificării antigenilor vaccinanți au fost elaborate tehnologii standardizate de clonare a genelor care le codifică sau de sinteză a secvențelor polipeptidice semnificative. Aceste tehnologii prezintă dublu interes: obținere de vaccinuri contra unor virusuri necultivabile în prezent (e. g. virusul hepatitei B) și randamentul mare.

Clonarea genelor care codifică antigenii polizaharidici nu a fost încă posibilă.

Glicosilarea corectă a glicoproteinelor virale a fost posibilă numai în levuri, celule de mamifere sau insecte. *E. coli* nu este un vector adecvat acestui scop. Prin clonare în levură a fost obținut AgHBs, folosit ca vaccin de a doua generație contra hepatitei B.

O problemă comună a vaccinurilor clonate și a polipeptidelor sintetice este necesitatea cuplării eficiente cu o proteină *carrier* (e. g. anatoxina tetanică sau o polipeptidă care să stimuleze celulele T).

12.2. INDICAȚIILE VACCINĂRII

Vaccinările generale vizează întreaga populație infantilă sau adultă, în raport cu un program guvernamental stabilit în funcție de gravitate și prevalența într-o țară a anumitor infecții.

Vaccinările selective vizează grupe de populație cu risc crescut de a contracta o anumită infecție. E. g. vaccinarea antihepatită B a personalului din serviciile de chirurgie, de stomatologie, de hemodializă; vaccinarea colectivităților militare antigripală, antiadenovirus, antipneumococică, antimeningococică; vaccinarea antigripală a personalului medical; vaccinarea antiholerică a turiștilor în arii endemice de holeră; vaccinarea antitifooidică în conjunctură epidemică ș. a.

Vaccinările elective vizează pacienți sau categorii de pacienți la care anumite infecții sunt mai frecvente și mai grave decât la populația generală. E. g. vaccinarea antirabică a persoanelor mușcate de animale, vaccinarea anti-*Pseudomonas aeruginosa* a pacienților

arși, vaccinarea antigripală a pacienților cu boli respiratorii cronice și cardiace, a diabeticilor, a vârstnicilor etc.

12.3. COMPLICAȚIILE VACCINĂRILOR

Boala infecțioasă indusă prin vaccinuri vii la persoane cu deficiențe ale apărării imune. Dacă reacția organismului adult la vaccinurile virale atenuate este cunoscută, reacția embrionului este alta. Așa este demonstrat efectul teratogen al vaccinului rubeolic administrat la gravide. Boala infecțioasă prin tulpini insuficient atenuate este foarte rară datorită controalelor riguroase pe care le impune astăzi avizarea unui vaccin.

Accidente alergice. Reacții anafilactice, reacții de tip Arthus sau reacții citolitice-citotoxice mediate prin anticorpi sau mediate celular se pot datora impurităților antigenice provenite din substratul de cultivare a tulpinii vaccinante (antigeni din ou, penicilină și alte antibiotice din culturile de celule) sau chiar antigenilor vaccinați. Reacții de tip Arthus s-au înregistrat după vaccinarea cu virus respirator sincițial sau antipneumococică la persoane care posedau anticorpi față de una din componentele vaccinului. Encefalomielite alergice apăreau după administrarea vaccinului antirabic preparat pe creier de iepure; vaccinul preparat pe embrion de rață le reduce semnificativ, dar totuși rar reacții anafilactice (sub 1%) și excepțional complicații neuroparalitice (0,001%). Vaccinul antirabic preparat pe linii celulare diploide de fibroblaști umani sau din pulmon fetal de maimuță elimină toate aceste inconveniente și este mai imunogen.

Reacții locale și sistemice (febră, mialgii, cefalee) apar frecvent după unele vaccinări, dar sunt pasagere, fără urmări.

12.4. CONTRAINDICAȚIILE VACCINĂRILOR

Contraindicațiile vaccinărilor sunt temporare și definitive.

Contraindicații temporare:

- sarcina contraindică administrarea vaccinurilor virale atenuate și sarcina este contraindicată în următoarele 3 luni după o asemenea vaccinare. Restricția nu vizează anatoxinele și vaccinurile inactivate.

- Bolile febrile acute pot fi agravate prin stresul vaccinal. Potențialul imun al organismului este mobilizat de microbul infectant și vaccinul poate rămâne ineficient. Infecția virală poate interfera infecția prin vaccinul viral atenuat. Unele viroze (gripa, rujeola ș. a.) deprimă răspunsul imun.

- Este contraindicată vaccinarea sugarilor aflați încă sub protecția anticorpilor materni, deoarece aceștia deprimă, prin *feedback* anticorpice, răspunsul imun față de vaccinuri care induc imunitate umorală.

- Tratamentele cu steroizi sau imunosupresive contraindică vaccinurile vii atenuate.

Contraindicații permanente:

- Imunodeficiențe severe datorate celulelor T sunt contraindicații absolute pentru administrarea vaccinurilor vii atenuate ca vaccinul BCG, antivariolic etc. Dar în deficiențele mai puțin severe, inclusiv infecția cu HIV, vaccinarea antirujeolică poate fi încercată, riscul postvaccinal fiind similar celui după infecția naturală.

Deficiențele celulelor B nu sunt o contraindicație pentru vaccinurile nonvii (inactivate, cu componente antigenice purificate etc.), dar mai precaut în asemenea cazuri este a se recurge la imunizare pasivă (vezi 13.2).

În general sensibilizările atopice contraindică vaccinările. În cazuri speciale se vor face numai după avizul medicului infecționist, testarea eventualei sensibilizări la componentele vaccinului (tabelul 12.1) și alături cu trusa de urgență pentru tratamentul fenomenelor anafilactice.

Tabelul 12.1. Exemple de vaccinuri mai frecvente pentru imunizări profilactice

Boala sau microorganismul	Tipul vaccinului	Calea de administrare ¹	Numărul dozelor	Momentul și succesiunea dozelor	Observații
<i>Vaccinări generalizate</i>					
Difterie	Anatoxină	i.m.	6	1 la 2 luni vârsta 2 la 4 luni 3 la 6 luni 4 la 18 — 21 luni 5 la 5 ani 6 la 8 — 12 ani	Se poate asocia cu vaccinurile antitetanic și până la vârsta de 4—6 ani, antipertussis ²
Poliomielită	Viu atenuat	orală	4	1 la 5 luni 2 la 7 luni 3 la 15 luni 4 la 5 ani	Conține penicilină
Rujeolă	Viu atenuat	s.c.	1	12 luni	Conține proteine din ou, polimixină și neomicină
Tetanos	Anatoxină	i.m.	6	1 la 2 luni 2 la 4 luni 3 la 6 luni 4 la 18 — 21 luni 5 la 5 ani 6 la 8 — 12 ani	Se poate asocia cu vaccinurile antidifteric și, până la vârsta de 4—6 ani, antipertussis ²
Tuberculoză	Viu atenuat	i.d.	1	Prima săptămână de viață a copilului normoponderal	Revaccinări selective la vârsta de 10—12 ani, 21 ani se fac la persoane cu i. d. r. la tuberculină negativă
Tuse convulsivă (pertussis)	Inactivat	i.m.	4	1 la 2 luni 2 la 4 luni 3 la 6 luni 4 la 18 — 21 luni	Numai până la vârsta de 4—6 ani se poate asocia cu vaccinurile antidifteric și antitetanic; după această vârstă componenta antipertussis este interzisă din cauza riscului encefalitei

Tabelul 12.1 (continuare)

Boala sau microorganismul	Tipul vaccinului	Calea de administrare ¹	Numărul dozelor	Momentul și succesiunea dozelor	Observații
<i>Vaccinări selective</i>					
Antrax	Viu atenuat	s.c.	6	1 la ziua 0 2 la 2 săptămâni 3 la 4 săptămâni 4 la 6 luni 5 la 12 luni 6 la 18 luni	Vaccinare în condiții de risc: persoane care manipulează lână, blănuri, piei de animale, făină de oase
Febră tifoidă	Inactivat	s.c., i.d.	2	1 la ziua 0 2 la ziua 28	Vaccinare înaintea deplasării în arii endemice sau în caz de calamități. Reacțiile febrile sunt uzuale
Gripă	Inactivat	s.c.	1	Preepidemic	Conține proteine din ou. Administrare electivă la bolnavi cronici cardiovasculari, renali, la diabetici și vârstnici
Hepatită B	Antigen HBs purificat	i.m.	3	1 la ziua 0 2 la 1 lună 3 la 6 luni	Vaccinare în condiții de risc: chirurghi, stomatologi, personalul secțiilor de hemodializă, pacienți hemodializați, homosexuali, contacti sexuali ai purtătorilor de antigen HBs.
Holeră	Inactivat	s.c.	2	1 la ziua 0 2 la ziua 28	Vaccinare înaintea deplasării în arii endemice sau în caz de calamități. În urgențe inocularea a 2-a la minimum 7 zile. Necesare rapeluri la 6 luni
Rabie	Inactivat	i.m., i.d.	3	1 la ziua 0 2 la ziua 7 3 la ziua 21—28	Vaccinare în condiții cu risc de expunere: veterinari, hingheri, speologi
<i>Vaccinări electivă</i>					
Rabie	Inactivat	i.m., i.d.	5	1 la ziua 0 2 la ziua 3 3 la ziua 7 4 la ziua 14 5 la ziua 28	Vaccinare după expunere: mușcătură de animal turbat sau animal mușcător necunoscut

¹ Abrevieri: i.d. – intradermic; i.m. – intramuscular; s.c. – subcutanat.

² Revaccinările 5 și 6 se fac numai persoanelor cu i.d.r. Schick pozitivă. Persoanele cu i.d.r. Schick combinată se revaccinează cu doze fracționate pentru a evita reacții brutale de sensibilizare. Revaccinările 5 și 6 numai cu anatoxină tetanică nu necesită testare prealabilă (se pot face generalizat).

12.5. AUTOVACCINUL

Când infecțiile cronice rămân rezistente la tratamentul antimicrobian sau alte tratamente aplicate, se recurge uneori la prepararea și administrarea unui autovaccin ca remediu terapeutic posibil.

Autovaccinul este o suspensie omorâtă de bacterii izolate cu semnificație clinică de la un pacient și injectată aceluiași bolnav pentru a stimula formarea de anticorpi. Aceste preparate sunt deosebit de utile pentru pacienții hipo- și agamaglobulinemici care necesită administrări repetate sau cronice de anticorpi (100–300 mg/kg corp de imunoglobulină standard la 3 săptămâni interval alternativ cu perfuzie de plasmă 10 ml/kg corp la 2 săptămâni). *Imunoglobulinele obișnuite se administrează intramuscular. Pentru administrarea intravenoasă există preparate speciale* (e. g. gamavenin, sandoglobin sau, produsă de Institutul Cantacuzino din București, imunoglobulina pentru administrarea intravenoasă) foarte utile pentru pacienții cu hipo- și agamaglobulinemie care necesită administrare de doze mari.

În tabelul 12.1 sunt prezentate preparatele de care dispunem în practica medicală pentru imunizarea pasivă.

Antiserurile și imunoglobulinele hiperimune trebuie să îndeplinească două condiții esențiale:

- Să aibă *activitate neutralizantă* (antitoxică, antivirală) măsurată conform standardelor internaționale (e. g. unități antitoxice etc.). Aceste standarde variază de la antitoxină la antitoxină și nu constituie obiectul acestui manual.

- Să aibă o *aviditate cât mai mare*. Aviditatea traduce viteza cu care anticorpul și antigenul (toxina, virus) se leagă cât mai ferm; ea rezultă din suma forțelor de atracție dintre paratopii anticorpului și epitopii antigenului.

După standardizare serurilor hiperimune și imunoglobulinelor li se adaugă prezervanții necesari (vezi tabelul 2.6), după care sunt fiolate, etichetate și livrate pentru utilizare.

12.5.1. Metoda de preparare

Mai accesibilă este prepararea autovaccinurilor omorâte prin căldură.

1. Se izolează din prelevatul patologic de la bolnav bacteria cu semnificație clinică.
2. Se obține cultura pură și se identifică bacteria izolată.
3. Se repică abundant cultura pură pe plăci cu geloză nutritivă sau geloză-sânge și se incubează la 37°C peste noapte.

4. Se raclează ușor cultura cu o pipetă Pasteur cudadă în unghi drept și se prepară suspensia bacteriană în soluție salină izotonă fără a include eventuale particule din mediul de cultură, care pot da reacții nedorite după injectare. Se ajustează densitatea suspensiei bacteriene la 10⁹ germeni/ml folosind etalonul turbidimetric Mac Farland.

5. Se inactivează suspensia de germeni nesporulați prin încălzire în baia de apă la 60°C timp de 1 oră. Temperaturi mai mari pot afecta imunogenitatea vaccinului.

6. Pentru controlul sterilității, se inoculează 1 ml din suspensia inactivată în câte un tub cu bulion aerob, respectiv anaerob. Se incubează tuburile cu bulion 4 zile la 37°C, după care se repică pe câte o placă cu geloză-sânge incubată aerob, cu subcultură din bulion și, anaerob, cu subcultură din bulionul anaerob.

7. Dacă aceste culturi rămân sterile, se adaugă suspensiei vaccinante de fenol în concentrație finală de 0,3—0,5% ca prezervant.

8. Se repartizează, strict aseptice, suspensia în flaconașe pentru vaccin și se etichetează marcând: numele și prenumele pacientului, specia bacteriană, concentrația suspensiei și data preparării.

Mai frecvent este indicat autovaccinul stafilococic pacienților cu furuncule recurente, la care infecția se însoțește cu sensibilizare la antigenii stafilococi. Vaccinul cu 250—300 milioane stafilococi/ml se administrează subcutanat pentru desensibilizare și imunizare. Dozarea începe cu 0,1 ml și crește săptămânal cu câte 0,1 ml timp de 10 săptămâni. Este utilă asocierea anatoxinei stafilococice. Eficiența autovaccinului stafilococic este de cca 55%.

Există și alte procedee pentru prepararea autovaccinurilor, e. g. inactivarea prin formol; fiind mai complicate, nu insistăm aici asupra lor.