

La vaccinazione negli animali d'affezione

Prof.ssa Paola Dall'Ara

DIVET, Facoltà di Medicina Veterinaria, Milano

Diversi vaccini sono disponibili in tutto il mondo per la profilassi della malattia di Lyme nel cane. Diversamente da tutti gli altri vaccini di uso comune, il meccanismo di prevenzione relativo ai vaccini per questa malattia è unico, in quanto gli anticorpi indotti dalla vaccinazione non combattono la borrelia nel cane ma nella zecca! [5]

Gli anticorpi indotti dal vaccino, e diretti contro l'antigene OspA della zecca, circolano nel sangue del cane e sono ingeriti dalla zecca con il pasto di sangue; questi anticorpi possono legarsi alle borrelie che esprimono OspA nella zecca, prevenire la migrazione alle ghiandole salivari e ridurre il loro tasso di crescita nella zecca. Se le borrelie hanno già infettato l'ospite, il batterio non è riconosciuto dagli anticorpi anti-OspA, in quanto queste borrelie hanno completamente cambiato il loro disegno antigenico a OspC/VisE e una sierconversione come risultato di OspA per infezione naturale non è comune. La vaccinazione deve essere in grado di indurre alti titoli anticorpali nel cane prima dell'esposizione alle zecche, e la trasmissione delle spirochete dalla zecca al cane è prevenuta solo durante le fasi con alti titoli anticorpali anti-OspA, motivo per cui la rivaccinazione è essenziale. [5, 6]

Perché vaccinare?

La borreliosi è una zoonosi e i cani possono essere serbatoio di infezione e veicolo di zecche infettanti [5]. Attualmente rappresenta la principale malattia umana trasmessa da vettore negli Stati Uniti e in Europa (negli USA si contano 20.000 nuovi casi all'anno, ma si pensa che l'incidenza sia 3-5 volte più alta) [10].

La decisione di vaccinare o meno deve sempre essere presa per i singoli soggetti in base al rischio individuale, legato a localizzazione geografica, attività all'aperto e rischio di infestazione da zecche [5]. Come sempre, la decisione di vaccinare è una decisione medica che deve essere presa dal medico veterinario di concerto con il proprietario valutando i reali rischi per ogni singolo cane [2].

La terapia antibiotica per la borreliosi è altamente efficace nelle prime fasi di malattia, mentre la terapia di una malattia cronica diventa più complicata; inoltre, un trattamento di successo non è accompagnato dalla completa eliminazione della spirocheta dai tessuti dell'ospite. Visto quindi che il trattamento è difficoltoso, il livello di protezione raggiunto con la vaccinazione è importante [12].

Vaccini disponibili nel mondo

Negli USA sono disponibili 4 tipi di vaccini, costituiti da lisato di cellule intere (batterine) e da OspA ricombinante, basati sulle proteine di *B. burgdorferi* sensu strictu [2, 5].

Vaccino	Ditta	Specie	Antigeni	Adjuvante
Lyme Vax	Fort Dodge	<i>B. burgdorferi</i> sensu strictu	Lisato monovalente	Sì
Galaxy Lyme	Schering Plough	<i>B. burgdorferi</i> sensu strictu	Lisato bivalente	Sì
Recombitek Lyme	Merial	<i>B. burgdorferi</i> sensu strictu	rOspA	No
ProLyme	Intervet	<i>B. burgdorferi</i> sensu strictu	rOspA	Sì

In Europa, dove la situazione epidemiologica è più complessa (dal momento che sono presenti più specie patogene nelle zecche), sono in commercio vaccini a base di batterine prodotte da *B. burgdorferi* sensu strictu o da *B. garinii* e *B. afzelii*, ma la cross-reattività degli anticorpi vaccinali non è stata ancora ben documentata [5].

I vaccini contenenti batterine, quindi un lisato dell'intera cellula batterica, inducono la produzione di anticorpi anti-OspA e anti-OspC, fornendo una protezione più completa [2, 5].

Protocolli vaccinali

I protocolli vaccinali variano in base al tipo di vaccino e a quanto consigliato dalla ditta produttrice. Inizialmente sono previste 2 vaccinazioni a 3-4 settimane di distanza e una vaccinazione un anno dopo. Sono quindi sufficienti richiami annuali per mantenere gli anticorpi anti-OspA a livelli sufficienti [5]. In diversi studi, è stato dimostrato che dopo le prime due vaccinazioni iniziali il livello di protezione si aggira intorno al 68% (in uno studio intorno solo al 49%) e sale al 92% (nello studio al 76%) dopo il richiamo l'anno successivo [12].

In un interessante studio di Töpfer e Straubinger del 2007 [12], sono stati messi a confronto 5 vaccini commerciali per valutare quale fosse il protocollo migliore da adottare:

Vaccino	Ditta	Specie	Antigeni	Adjuvante
Merilym*	Merial (Europa)	<i>B. burgdorferi</i> sensu strictu	Lisato	Sì
Lyme Vax	Fort Dodge (USA)	<i>B. burgdorferi</i> sensu strictu	Lisato	Sì
ProLyme	Intervet (USA)	<i>B. burgdorferi</i> sensu strictu	rOspA	Sì
Recombitek Lyme	Merial (USA)	<i>B. burgdorferi</i> sensu strictu	rOspA	No
Biocan B	Bioveta (Rep. Ceca)	<i>B. garinii</i> e <i>B. afzelii</i>	Lisato	Sì

* è l'unico vaccino disponibile in Italia, conosciuto anche con il nome di Eurican Lyme

Tra tutti questi vaccini, quello che ha fornito l'immunità più scarsa è stato quello ricombinante senza adjuvante. In uno studio di parte [13] questo stesso vaccino ha fornito protezione ancora dopo un anno.

In un ulteriore studio [8] l'uso di questo stesso vaccino ha ridotto il rischio di infezione: il 25% dei cani vaccinati si è infettato, contro il 63% dei cani non vaccinati

Indipendentemente dal tipo e dalla marca di vaccino, l'introduzione di una terza vaccinazione porta a un significativo aumento dei titoli anticorpali, esattamente come dimostrato in umana: dopo un tentativo di inserire la terza vaccinazione subito dopo le prime 2 (a distanza di ulteriori 2-3 settimane), gli autori sono stati concordi nel consigliare una terza vaccinazione più distanziata, dopo 4-6 mesi dalle prime 2, quando gli anticorpi mostravano il calo maggiore [12]. Alcuni cani si negativizzano addirittura 22 settimane dopo la seconda vaccinazione [7].

I vaccini costituiti da batterine inducono alti livelli di anticorpi anti-OspA e anti-OspC subito dopo la vaccinazione; dopo un anno, gli anticorpi anti-OspC non sono più rilevabili, mentre quelli anti-OspA lo sono ancora, anche se a titoli molto bassi. Quando questi cani sono stati infestati con zecche infette, la vaccinazione è riuscita ancora a fornire una buona protezione; le borrelie hanno colonizzato la cute del 40% dei cani malgrado la presenza di anticorpi sierici anti-OspA in quasi tutti, anche se non si sono poi ammalati né hanno sierconvertito [6].

Cosa dicono le linee guida?

La *World Small Animal Veterinary Association* (WSAVA), nelle sue linee guida del 2010 (le più recenti) e la *American Animal Hospital Association* (AAHA) nelle sue linee guida del 2011, considerano la vaccinazione contro la malattia di Lyme *non core* (non essenziale), da prevedere solo per cani ad alto rischio di esposizione, che vivono o che si recano in zone ad alto rischio di esposizione al vettore (la zecca) o che vivono in zone in cui la malattia è endemica. Per cuccioli di

<16 settimane, la prima vaccinazione (con batterine o con antigene OspA ricombinante) deve essere eseguita a 12 o più settimane di età, seguita da un richiamo 2-4 settimane dopo (le linee guida si raccomandano di non vaccinare i cuccioli più precocemente, preferibilmente completando la prima serie vaccinale delle vaccinazioni core). Anche il foglietto illustrativo di Merilym (Eurican Lyme) riporta la prima vaccinazione a 12 settimane, pur avendo testato sicurezza ed efficacia in cuccioli a partire dalle 6 settimane di età.

Cani più grandi (>16 settimane) devono ricevere 2 vaccinazioni distanziate di 2-4 settimane (una singola vaccinazione non è protettiva). I richiami sono annuali, meglio giusto prima dell'inizio della stagione delle zecche (che dipende dalla localizzazione geografica) [1, 14].

Nel 2006, l'*American College of Veterinary Internal Medicine* (ACVIM), nel suo Consensus Statement per la malattia di Lyme, consiglia la vaccinazione solo in cani a rischio e prima dell'esposizione alle zecche, iniziando in cuccioli di 9-12 settimane con 2 vaccinazioni a 2-4 settimane di distanza, seguite da richiami annuali preferibilmente prima della stagione delle zecche (primavera) [2].

Però...

Studi effettuati con un vaccino OspA ricombinante (rOspA) e con un vaccino a base di batterine hanno purtroppo segnalato che la protezione fornita da questi vaccini non previene l'infezione in un'alta percentuale di riceventi (fino al 40%) per tre motivi: le borrelie down-regolano l'espressione di OspA immediatamente dopo che la zecca infetta comincia a nutrirsi, gli anticorpi anti-OspA borreliecidici sono genospecifici e le zecche possono essere infette da borrelie OspA-negative [6]. I cani vaccinati possono ancora infettarsi dato che la protezione può essere incompleta e svanisce nel tempo [9].

Non tutti gli animali che si infettano si ammalano: solo una piccola percentuale di cani naturalmente infetti diventa sintomatica dopo un tipico periodo di incubazione di alcune settimane [7].

L'incidenza dei segni clinici dopo il morso di una zecca infetta da borrelia è molto basso (<5%) [7, 13].

La cross-protezione contro borrelie diverse da *B. burgdorferi* sensu strictu è solo minima, per cui sono possibili infezioni e segni clinici da altre borrelie [7].

Alcuni cani vaccinati con batterine sviluppano segni clinici di malattia di Lyme senza infezione naturale [4, 7, 13].

Reazioni avverse

I vaccini a base di batterine, contenenti più tipi di antigeni, possono essere più a rischio di reazioni immunomediate e reazioni avverse. La somministrazione di questi vaccini è associata a <2% di reazioni avverse (dati del 1993). Dal momento che artropatia e nefropatia tipiche della malattia di Lyme derivano almeno in parte dalla risposta immunitaria contro il batterio (deposito di immunocomplessi a livello sinoviale e glomerulare), è possibile che in alcuni cani (con probabile predisposizione genetica) la vaccinazione possa contribuire all'immunopatogenesi della malattia. Circa il 30% dei cani con nefropatia attribuibile a Lyme era stata vaccinata. Le batterine uccise stimolano nel cane la produzione di citochine infiammatorie.

Nell'uomo gli anticorpi contro diversi antigeni di *B. burgdorferi* reagiscono contro diversi autoantigeni (*molecular mimicry*), cosa che ha complicato l'uso dei vaccini per la malattia di Lyme in medicina umana e che ne ha portato al ritiro dal commercio perché troppo rischiosi [2].

Non solo vaccinazione...

È sempre bene ricordare che la sola vaccinazione contro *B. burgdorferi* non è raccomandata, in quanto insufficiente a garantire una protezione; deve essere sempre previsto un attento controllo

delle zecche mediante repellenti e la rimozione giornaliera di singole zecche da parte del proprietario è essenziale, soprattutto in aree endemiche [2, 5, 9, 12].

E nei selvatici?

Dal momento che molte malattie infettive persistono per la presenza di specie selvatiche serbatoio, rappresentando un pericolo per la salute pubblica (e tra queste spiccano rabbia, peste selvatica e malattia di Lyme), in questi ultimi 20 anni si è pensato a un approccio profilattico nelle specie selvatiche come metodo alternativo di controllo per queste malattie, soprattutto visto il successo della vaccinazione orale nelle volpi per il controllo della rabbia silvestre. Il successo della vaccinazione (quella orale è sicuramente l'approccio migliore) dipende da 3 fattori: un immunogeno efficace, un veicolo efficace e un'esca specie-specifica. I vaccini a microrganismi vivi attenuati o ricombinanti sono quelli maggiormente usati e possono essere utilizzati per un'immunizzazione per via orale. Per quanto riguarda la malattia di Lyme, nel nord-est degli Stati Uniti è stata tentata una vaccinazione sperimentale dei topi dai piedi bianchi (*Peromyscus leucopus*) con un vaccino OspA (vaccino vivo a vettore ricombinante, con *Escherichia coli* o *vaccina virus* che esprimono OspA): tale approccio, condotto in laboratorio per via orale e in campo catturando i topini e vaccinandoli per via parenterale, ha permesso in entrambi i casi di ridurre lo stato di portatore e di conseguenza il rischio di trasmissione [3].

E nell'uomo?

Attualmente non ci sono vaccini disponibili per la profilassi della malattia di Lyme nell'uomo. Per pochi anni è stato disponibile in commercio un vaccino OspA ricombinante adjuvato, che è stato successivamente ritirato dal commercio americano per questioni economiche, anche se diversi studi ne avevano dimostrato l'efficacia nello stimolare una buona risposta anticorpale nell'uomo (80% dopo 3 vaccinazioni, con calo del titolo anticorpale nel tempo che richiedeva ulteriori richiami) [11, 12]. Ma il motivo è molto più complesso (*vedi oltre*).

È stato successivamente studiato un altro vaccino di seconda generazione, potenzialmente più sicuro, che esclude l'epitopo coinvolto nella cross-reattività [2]. Altri possibili candidati vaccini sono diversi antigeni di *B. burgdorferi* e diverse proteine di zecca, da soli o in associazione [11].

Il caso del vaccino ritirato

Dopo l'identificazione della proteina di superficie esterna OspA di borrelia, nel 1998 negli Stati Uniti sono arrivati alla fase III (trial clinici) di registrazione due vaccini: 1) "LYMERix" di SmithKline Beecham (ora Glaxo SmithKline) e 2) "ImuLyme" di Pasteur Mérieux Connaught.

1) "LYMERix" di SmithKline Beecham (ora Glaxo SmithKline): è stato rilasciato nel dicembre 1998; era costituito da 30 µg della lipoproteina OspA ricombinante espressa in *Escherichia coli* con 0,5 mg di idrossido di alluminio come adjuvante. Il protocollo vaccinale prevedeva 3 dosi da 0,5 ml ai mesi 0, 1 e 12; la fase III è stata svolta in uno studio placebo-controllato su 10.906 individui di età compresa tra 15 e 70 anni in aree dove la malattia di Lyme è endemica. Dopo un anno di osservazione, non sono stati notati effetti avversi significativi (anche se le poche reazioni osservate erano maggiori nei soggetti vaccinati rispetto ai controlli inoculati con placebo). L'efficacia vaccinale è stata stimata del 76% dopo 3 dosi di vaccino e del 49% dopo 2 dosi. Sulla base di questi dati, il vaccino ha ricevuto l'autorizzazione all'immissione in commercio per persone a rischio di età di 15-70 anni (difficile però stabilire il reale rischio).

2) "ImuLyme" di Pasteur Mérieux Connaught: è stato testato in uno studio in doppio cieco placebo-controllato su 10.305 individui di età compresa tra 18 e 92 anni in aree dove la malattia di Lyme è endemica. L'efficacia vaccinale è stata stimata del 92% dopo 3 dosi di vaccino e del 68% dopo 2 dosi. Non vi erano differenze nella gravità degli effetti avversi tra vaccinati e controlli. La ditta produttrice di questo vaccino non ha però proseguito l'iter di registrazione, per diversi motivi (problemi tecnici, royalties e brevetto con Glaxo, mercato troppo piccolo per essere vantaggioso)

Nel maggio 1998 (6 mesi prima dell'immissione in commercio di LYMERix), è stato creato un panel dalla *Food and Drug Administration* (FDA) per valutare tutti i pro e soprattutto i contro del vaccino (non protettivo contro subspecie di borrelia fuori dagli Stati Uniti, vaccinati non completamente protetti fino a un anno dopo la prima vaccinazione, assenza di dati sulla sicurezza a lungo termine, impossibilità di usarlo in ragazzi <15 anni che sono tra quelli a rischio maggiore, possibile relazione con lo sviluppo di artrite autoimmune e artrite infiammatoria in soggetti suscettibili): dopo lunga discussione, il vaccino ha ricevuto un consenso unanime per l'immissione in commercio.

Dal momento che l'artrite di Lyme è influenzata da fattori immunogenetici dell'ospite (predisposizione di soggetti con alleli HLA-DR4 ad artrite cronica non responsiva) e che è immunomediata, ha cominciato a circolare l'ipotesi che lo stesso vaccino potesse causare artrite in riceventi con gli stessi aplotipi HLA con un meccanismo di *molecular mimicry* tra OspA e l'antigene 1 funzione-associato dei linfociti (LFA-1) e dal 1998 sono stati pubblicati 3 articoli che sottolineavano il possibile ruolo artritogeno di OspA vaccinale. Questo ha portato a una copertura mediatica imponente, a sensazionalismo con blog in internet delle "vittime del vaccino", allo sviluppo di gruppi contro la vaccinazione per Lyme (quale il Lyme disease network) che richiedevano l'immediato ritiro del vaccino dal commercio e a class action contro il vaccino.

Come risultato, il panel della FDA si è riunito nel gennaio 2001 per analizzare tutti i dati a disposizione e, dopo attento esame, ha concluso che non vi era evidenza di un'associazione tra vaccino e artrite e che il beneficio conseguente alla vaccinazione era superiore al rischio teorico di sviluppare artrite. Il panel si era dato tempo 4 anni per completare la fase IV di registrazione, ma dopo soli 2 anni (nel febbraio 2002) la ditta ha deciso volontariamente di ritirare dal commercio il vaccino. A quel momento erano stati arruolati 2.568 vaccinati e 7.497 controlli e non vi erano differenze tra le reazioni avverse notate nei vaccinati rispetto ai controlli: l'incidenza di artrite non era diversa tra le persone non vaccinate e non vi era neanche evidenza di una relazione dose-risposta. Si è quindi concluso che non vi erano convincenti prove scientifiche o plausibilità biologica a supporto dell'idea che la somministrazione del vaccino OspA ricombinante in un individuo con un dato aplotipo HLA aumentasse il rischio di artrite autoimmune.

Malgrado ciò, nel 2002 la ditta decise di ritirare il prodotto dal commercio, per una serie di motivi: ipotesi della *molecular mimicry* e della risposta autoimmune al vaccino, sentimento anti-vaccino e class action, protocollo di somministrazione complesso, diminuito supporto dei medici relativo al vaccino, scarsa domanda.

La paura che rimane dopo questa storia è che il sentimento anti-vaccinazione nell'opinione pubblica e le class action possano portare a grosse difficoltà nello sviluppo di un qualsiasi altro vaccino contro la malattia di Lyme [10].

Bibliografia consultata

1. **American Animal Hospital Association (AAHA)** (2011): 2011 AAHA Canine Vaccination Guidelines. Pagina web: <http://www.aaaha.org/content/47/5/1.extract>
2. **American College of Veterinary Internal Medicine (ACVIM)** (2006): Small animal consensus statement on Lyme disease in dogs: diagnosis, treatment and prevention. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 20, 422-434
3. **Cross M.L., Buddle B.M., Aldwell F.E.** (2007): The potential of oral vaccines for disease control in wildlife species. *The Veterinary Journal*, 174, 472-480
4. **Jacobson R.H., Chang Y.F., Shin S.J.** (1996): Lyme disease: laboratory diagnosis of infected and vaccinated symptomatic dogs. *Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animal)*, 11 (3), 172-182
5. **Krupka I., Straubinger R.K.** (2010): Lyme borreliosis in dogs and cats: background, diagnosis, treatment and prevention of infections with *Borrelia burgdorferi* sensu strictu. *Veterinary Clinics of North America, Small Animal Practice*, 40 (6), 1103-1119

6. **LaFleur R.L., Callister S.M., Dant J.C., Jobe D.A., Lovrich S.D., Warner T.F., Wasmoen T.L., Schell R.F.** (2010): One-year duration of immunity induced by vaccination with a canine Lyme disease bacterin. *Clinical and Vaccine Immunology*, 17, 870-874
7. **Leschnik M.W., Kirtz G., Khanakah G., Duscher G., Leidinger E., Thalhammer J.G., Joachim A., Stanek G.** 2010): Humoral immune response in dogs naturally infected with *Borrelia burgdorferi* sensu lato and in dogs after immunization with a *Borrelia* vaccine. *Clinical and Vaccine Immunology*, 17, 828-835
8. **Levy S.A., Clark K.K., Glickman L.T.** (2005): Infection rates in dogs vaccinated and not vaccinated with an OspA *Borrelia burgdorferi* vaccine in a Lyme disease-endemic area of Connecticut. *International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine*, 3 (1), 1-5
9. **Little S.E., Heise S.R., Blagburn B.L., Callister S.M., Mead P.S.** (2010): Lyme borreliosis in dogs and humans in the USA. *Trends in Parasitology*, 26 (4), 213-218
10. **Poland G.A.** (2011): Vaccine against Lyme disease: what happened and what lessons can we learn? *Clinical Infectious Diseases*, 52 (Suppl. 3), S253-S258
11. **Schuijt T.J., Hovius J.W., van der Poll T., van Dam A.P., Fikrig E.** (2011): Lyme borreliosis vaccination: the facts, the challenge, the future. *Trends in Parasitology*, 27 (1), 40-47
12. **Töpfer K.H., Straubinger R.K.** (2007): Characterization of the humoral immune response in dogs after vaccination against the Lyme borreliosis agent: a study with five commercial vaccines using two different vaccination schedules. *Vaccine*, 25, 314-326
13. **Wikle R.E., Fretwell B., Jarecki M., Jarecki-Black J.C.** (2006): Canine Lyme disease: one-year duration of immunity elicited with a canine OspA monovalent Lyme vaccine. *International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine*, 4 (1), 23-28
14. **World Small Animal Veterinary Association (WSAVA)** (2010): Guidelines for the vaccination of dogs and cats, compiled by the Vaccination Guidelines Group (VGG) of the World Small Animal Veterinary Association (WSAVA). *Journal of Small Animal Practice*, vol. 51. Pagina web: <http://www.wsava.org/PDF/Misc/VaccinationGuidelines2010.pdf>