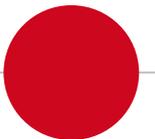


# VACCINI A DNA: STATO DELL'ARTE ED APPLICAZIONI IN ACQUACOLTURA

Andrea Marsella

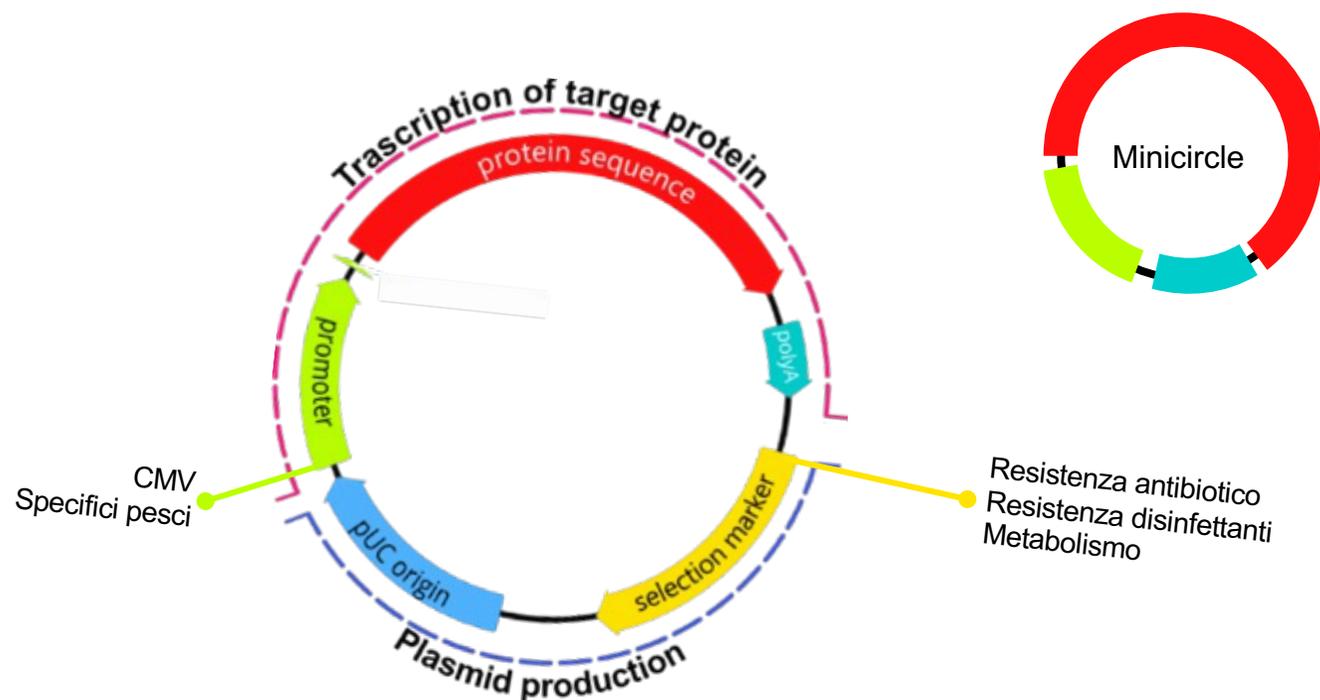
IZSve – Laboratorio Nazionale di Riferenza per le malattie dei pesci

---



# ● Cosa sono i vaccini a DNA

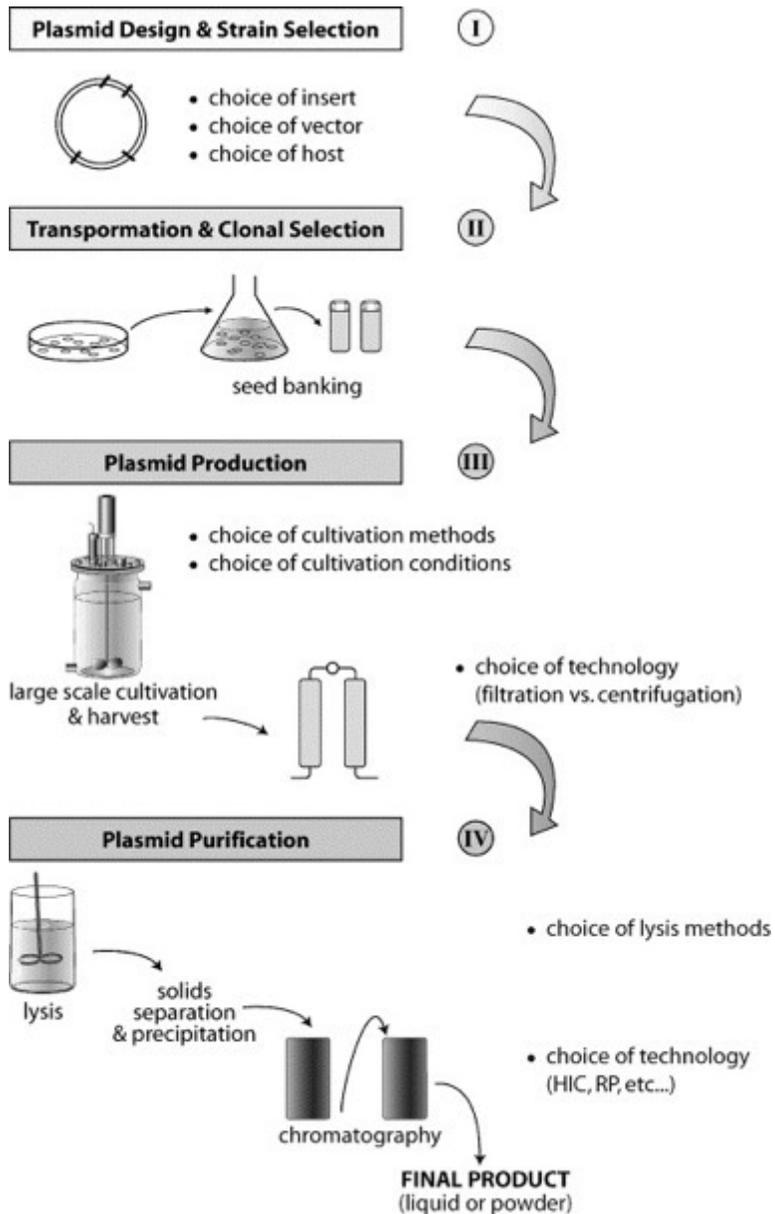
- ❖ Vaccini di Terza generazione
- ❖ doppio filamento di DNA (circolare o superavvolto)
- ❖ Concezione di Wolff et al 1990
- ❖ Anderson et al 1996 in trota iridea



- Sequenze replicazione batterica
- Promotore
- Sequenze gene proteina target
- Sequenza terminazione poliadenilata
- Marker selezione batterica

- Molecole «adiuvanti»:
  - Citochine
  - Chemochine
- Sequenze «adiuvanti»:
  - CpG motif

# ● Come vengono prodotti i vaccini a DNA



I. Progettazione del vettore

II. Trasfezione e selezione di colonie batteriche

III. Replicazione del plasmide

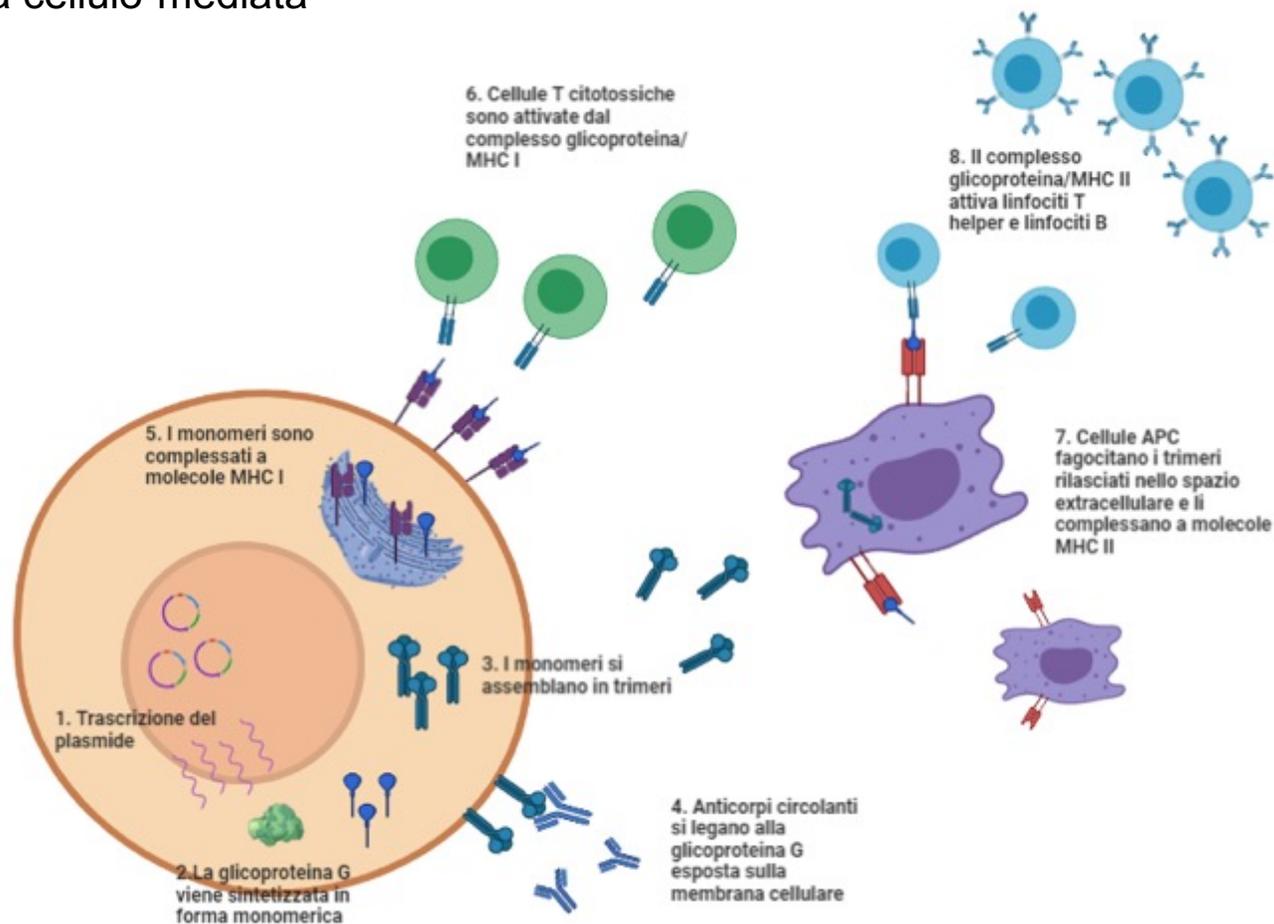
IV. Lisi cellule batteriche e purificazione del plasmide

# ● Come funzionano i vaccini a DNA

- ❖ Assimilazione o ingresso diretto in cellule APC ( Cellule dendritiche, miociti)
- ❖ Attivazione sia immunità cellulo-mediata che umorale



Influenza delle dimensioni del plasmide e del grado di avvolgimento



# ● Come somministrare i vaccini a DNA



Estremamente efficace



- Meno efficace
- Richiede incapsulazione del plasmide
- GALT poco sviluppato nei pesci



- Meno efficace
- Richiede procedure che favoriscano l'ingresso del plasmide nell'ospite (scarificazione cutanea, ultrasuoni)

# ● I vaccini a DNA sono sicuri?



 **PERICOLO**

- ❖ Integrazione nel genoma
- ❖ Diffusione resistenza ATB
- ❖ Reazioni avverse

## Probabilità trascurabile

- Assenza sequenze specifiche
- Superavvolgimento del plasmide

## Probabilità bassa

- Assenza sequenze specifiche

## Trascurabili o non descritte

Legate ad adiuvanti o tossici residui del processo di lavorazione (ad es. LPS) o a vaccini a mRNA



assenza di lesioni istologiche e reazioni avverse non descritte



Integrazione nel genoma e nella fauna intestinale estremamente improbabili

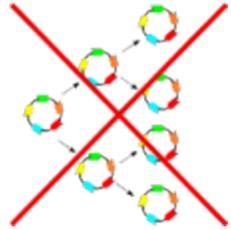


Diffusione antibiotico-resistenza possibile ma improbabile

# ● OGM o non OGM?

## Protocollo di Cartagine sulla Biosicurezza

Convenzione sulla Biodiversità (2003)



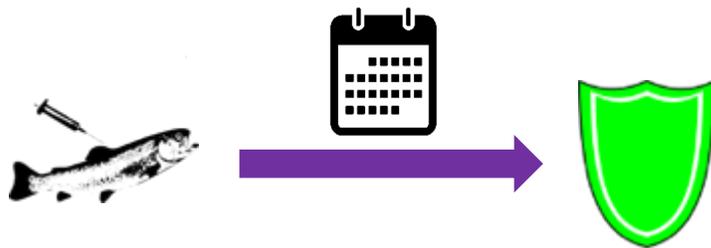
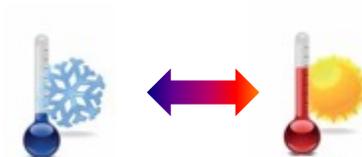
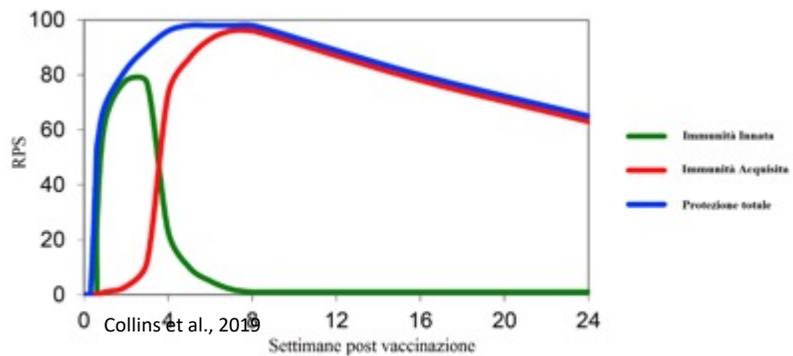
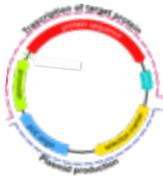
I plasmidi non replicano autonomamente



Bassissima probabilità di integrazione nel genoma dell'ospite



# ● I vaccini a DNA sono efficaci?



# ● I vaccini a DNA sono efficaci?

Poco testati nei confronti di parassiti e batteri



- Maggior numeri di antigeni coinvolti
- Scarsa efficacia
- Disponibili alternative



- VHS
- IHN
- PD
- IPN
- ISA
- SVCV
- KHVD
- CyHV-2
- RSIVD
- LCDV
- TiLVD
- VNN



Efficacia variabile



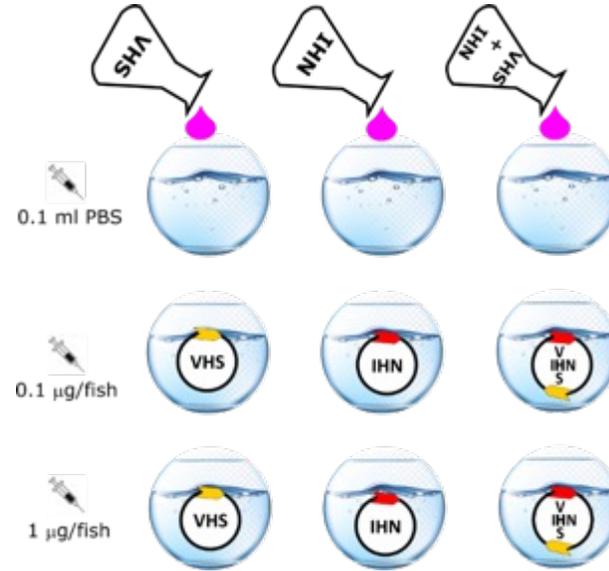
Condizioni sperimentali

Vie di somministrazione

Dosi somministrate

**Molto efficaci nei confronti di virus con envelope**

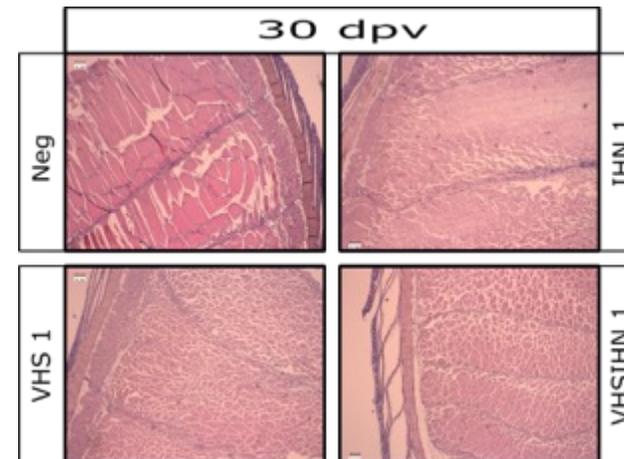
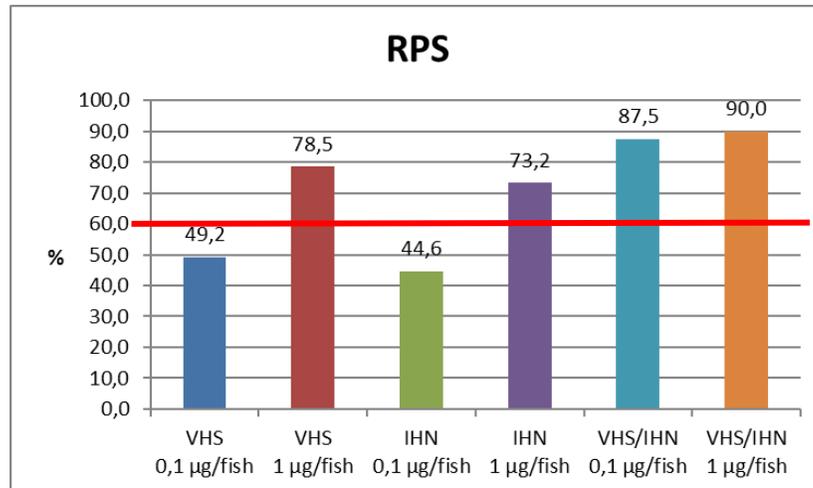
# Vaccini a DNA: l'esperienza IZSVe



## Article Efficacy of DNA Vaccines in Protecting Rainbow Trout against VHS and IHN under Intensive Farming Conditions

Andrea Marsella <sup>1,\*</sup>, Francesco Pascoli <sup>1</sup>, Tobia Pretto <sup>1</sup>, Alessandra Buratin <sup>1</sup>, Lorena Biasini <sup>1</sup>, Miriam Abbadi <sup>1</sup>, Luana Cortinovia <sup>1</sup>, Paola Berto <sup>1</sup>, Amedeo Manfrin <sup>1</sup>, Marco Vanelli <sup>2</sup>, Simona Perulli <sup>2</sup>, Jesper S. Rasmussen <sup>3</sup>, Dagoberto Sepúlveda <sup>3</sup>, Niccolò Vendramin <sup>3</sup>, Niels Lorenzen <sup>3</sup> and Anna Toffan <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, National Reference Laboratory for Fish Diseases, 35020 Legnaro, Italy  
<sup>2</sup> FATRO S.p.A., 40064 Orzano dell'Emilia, Italy  
<sup>3</sup> Unit for Fish and Shellfish Diseases, Institute for Aquatic Resources, Technical University of Denmark, Kemitorvet, Building 202, DK-2800 Kgs. Lyngby, Denmark  
 \* Correspondence: amarsello@izsvenezie.it

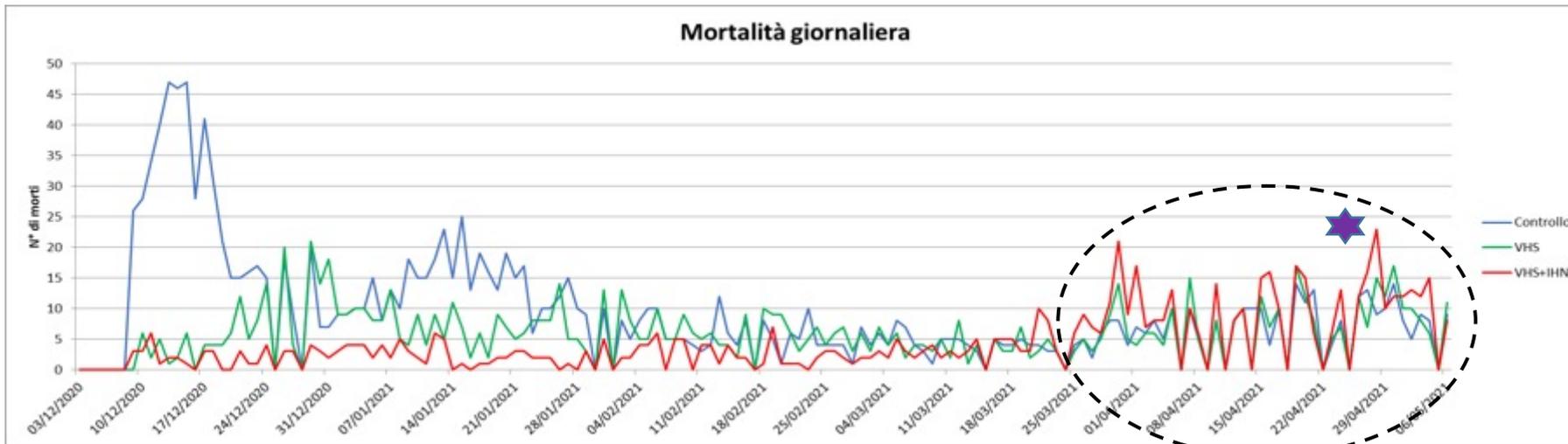
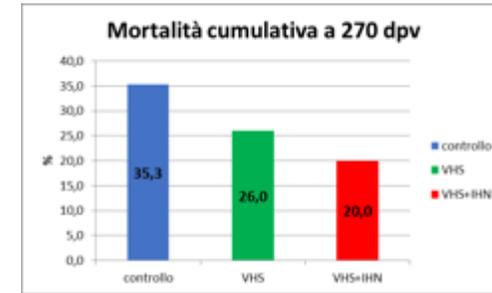
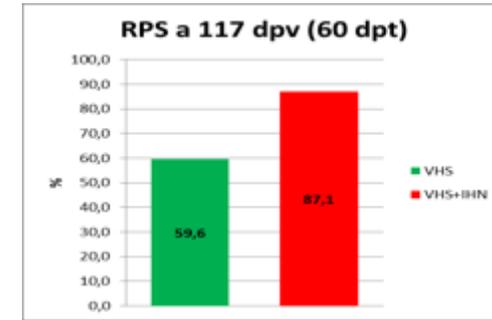
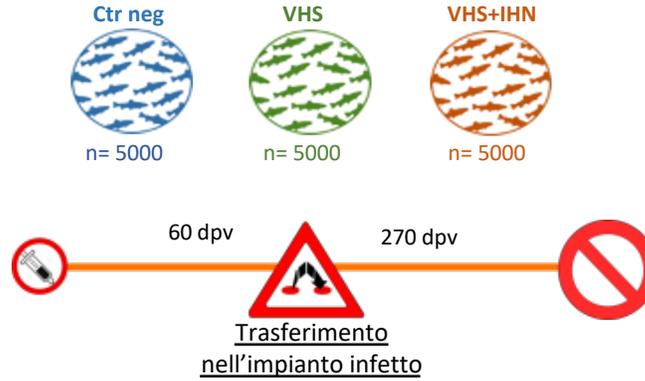


# Vaccini a DNA: l'esperienza IZSVE



1 µg/pesce

= 11°C



★ Positività per *Yersinia ruckeri* biotipo 2

⊕ Diminuzione mortalità a seguito del trattamento antibiotico

# ● Applicazioni in acquacoltura di vaccini a DNA



Vaccino a DNA contro IHN registrato per salmone atlantico dal 2004



Vaccino a DNA contro PD registrato per salmone atlantico dal 2017



- Procedura centralizzata per AIC
- Pericolo Antibiotico-resistenza
- Mercato non competitivo



# ● Vantaggi e svantaggi



Economici da produrre



Efficaci verso virus con envelope



Versatili



AIC costosa



Somministrazione IM





Grazie dell'attenzione

