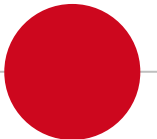


VACCINI A DNA: STATO DELL'ARTE ED APPLICAZIONI IN ACQUACOLTURA

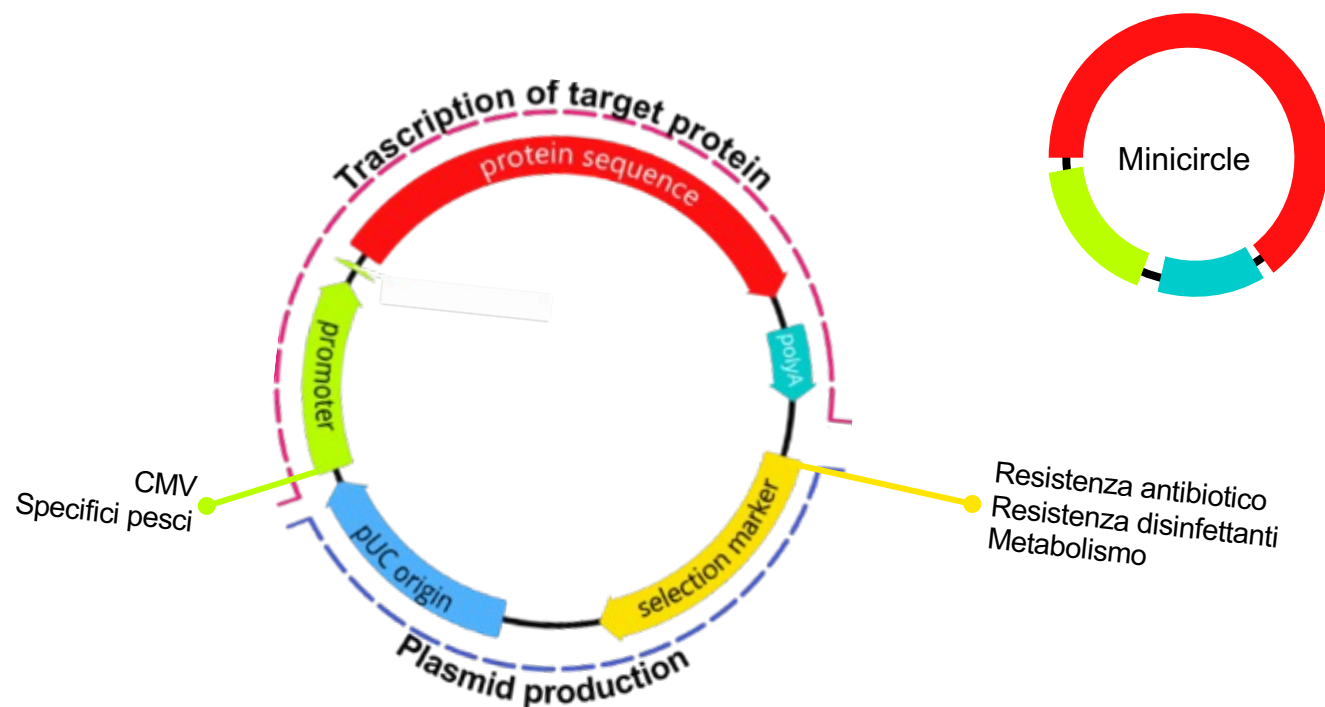
Andrea Marsella

IZSve – Laboratorio Nazionale di Referenza per le malattie dei pesci



● Cosa sono i vaccini a DNA

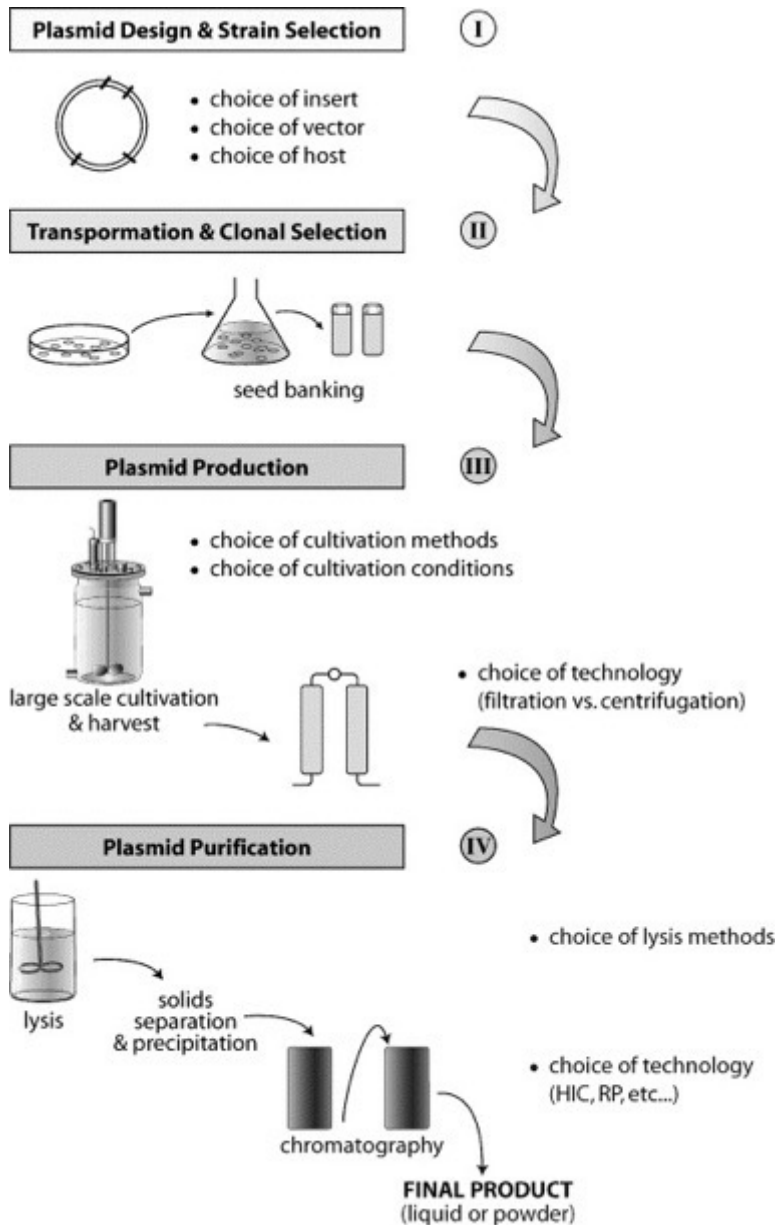
- ❖ Vaccini di Terza generazione
- ❖ doppio filamento di DNA (circolare o superavvolto)
- ❖ Concezione di Wolff et al 1990
- ❖ Anderson et al 1996 in trota iridea



- 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

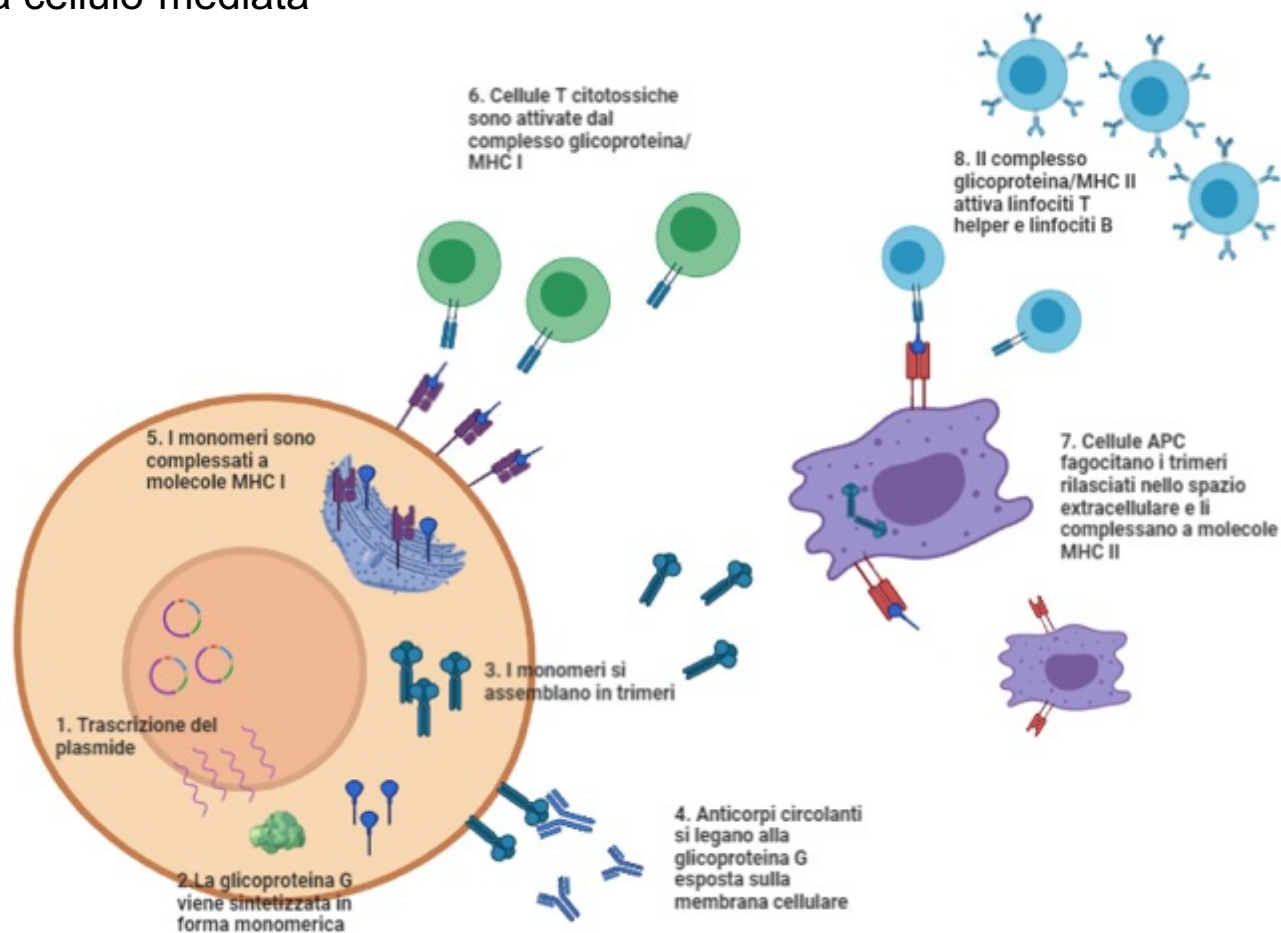
IV. Lisi cellule batteriche e purificazione del plasmide

● 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



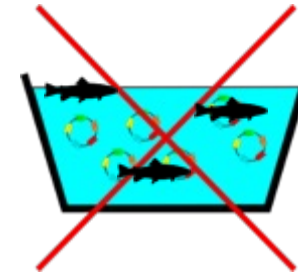
● Come somministrare i vaccini a DNA



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



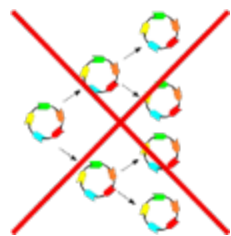
Integrazione nel genoma e nella fauna intestinale estremamente improbabili



Diffusione antibiotico-resistenza possibile ma improbabile

● OGM o non OGM?

Protocollo di Cartagine sulla Biosicurezza Convenzione sulla Biodiversità (2003)



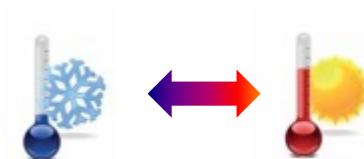
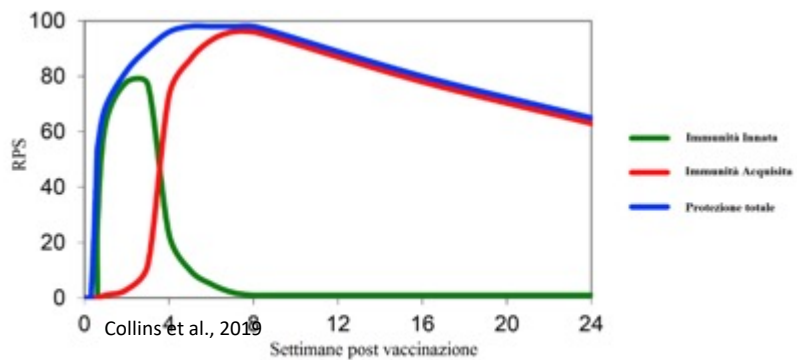
I plasmidi non replicano autonomamente



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



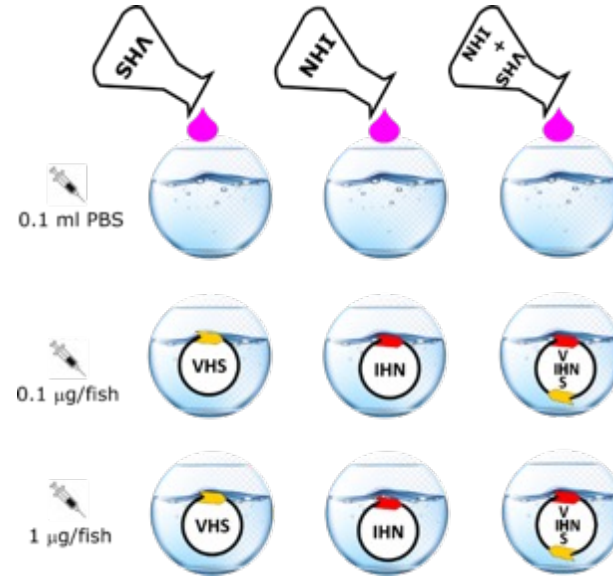
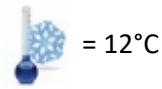
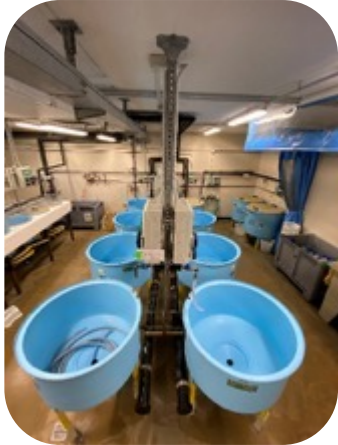
Condizioni sperimentali

Vie di somministrazione

Dosi somministrate

Molto efficaci nei confronti di virus con envelope

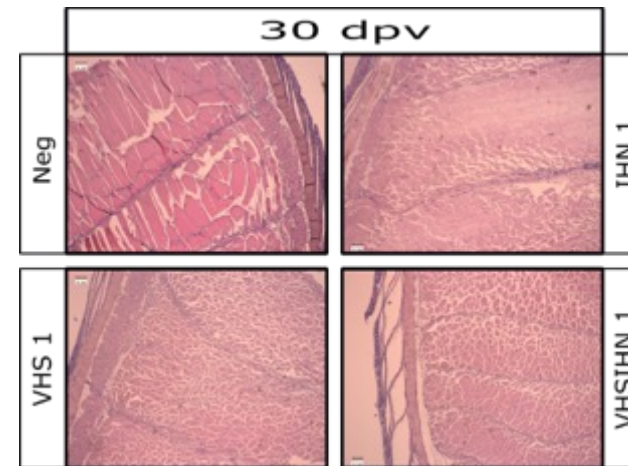
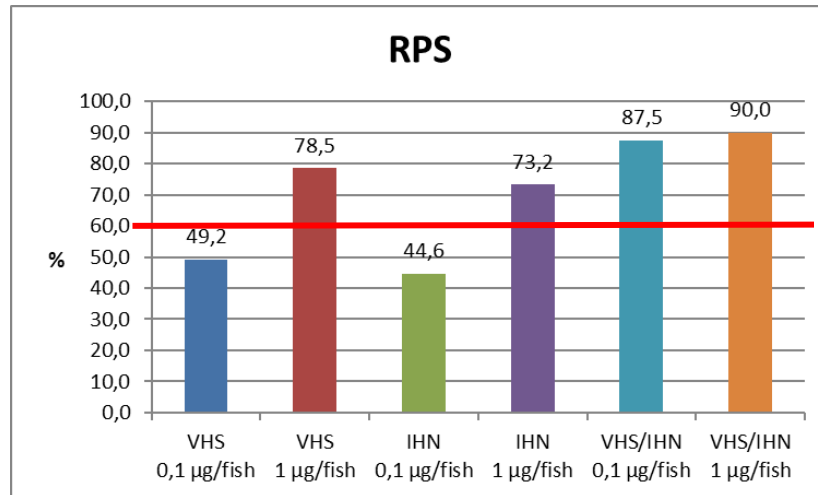
Vaccini a DNA: l'esperienza IZSve



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

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

¹ Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, National Reference Laboratory for Fish Diseases, 35020 Legnaro, Italy
² FATRO S.p.A., 40064 Orzano dell'Emilia, Italy
³ 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

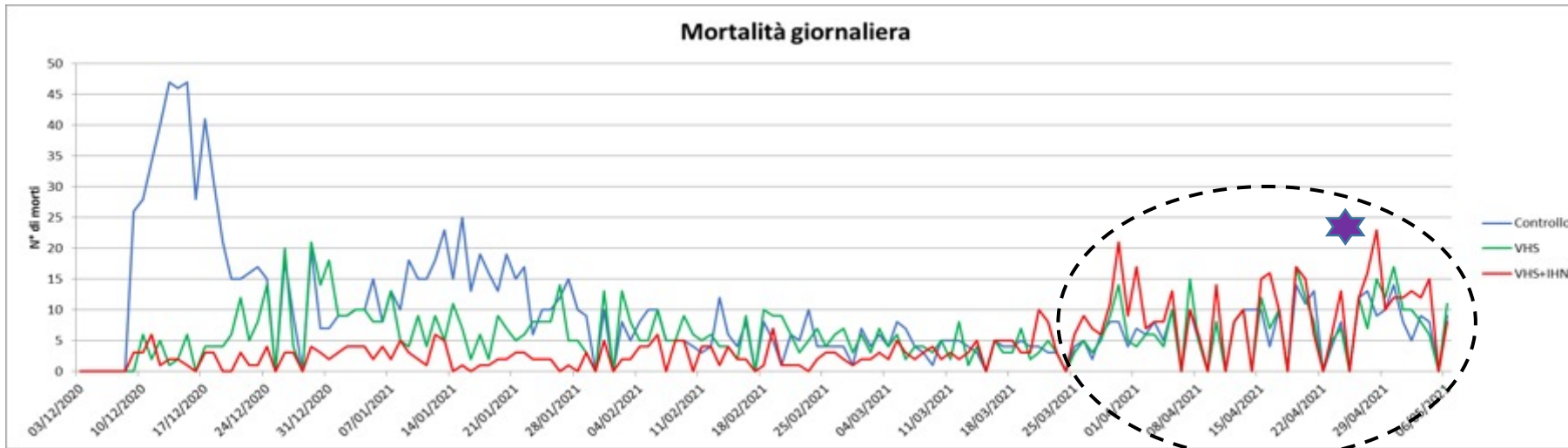
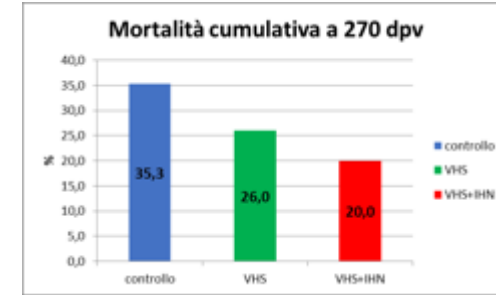
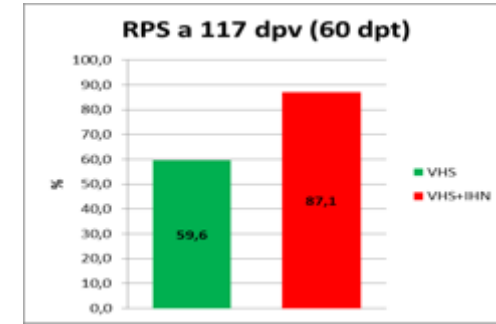
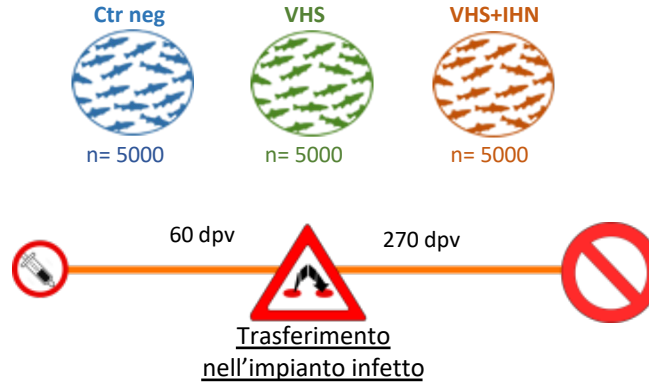


Vaccini a DNA: l'esperienza IZSVE



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

