



ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI

## VACCINI COVID-19: RAPPORTO ESTATE 2022

Documento della Commissione Lincea Covid-19<sup>1</sup>

*I pareri espressi dalle Commissioni Lincee rientrano nella loro autonoma responsabilità*

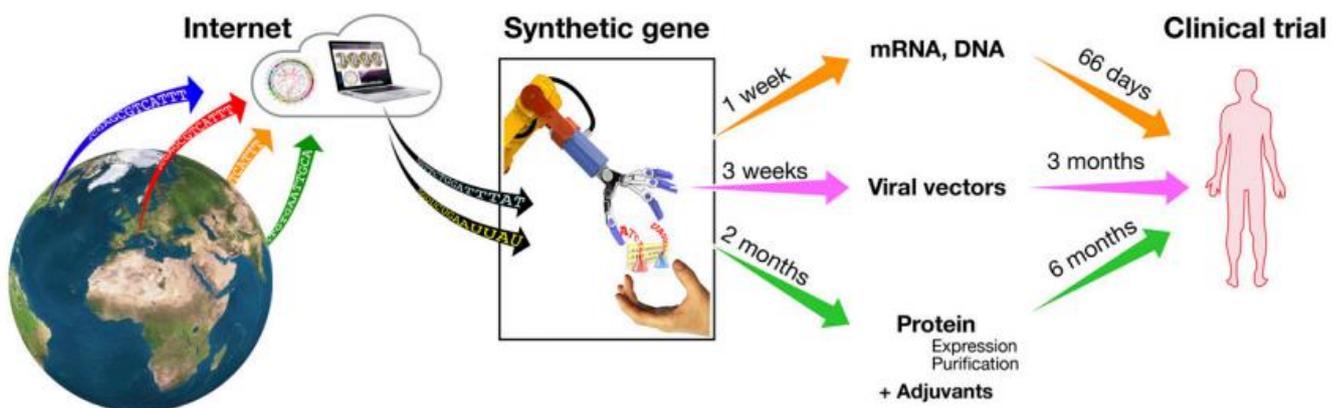
### Sommario

1. Introduzione
2. Lo sviluppo dei vaccini anti COVID-19
  - Il ruolo dei finanziamenti
  - L'Operation Warp Speed*
  - L'approccio dell'Unione Europea
  - Verso una più equa distribuzione dei vaccini anti COVID-19
  - I vaccini anti COVID-19 senza brevetto
  - I vaccini anti COVID-19 come un *common good*
3. Le piattaforme tecnologiche: l'aspetto formidabile della creatività umana
  - Gli attuali vaccini basati su virus SARS-CoV-2 inattivati
  - Gli attuali vaccini basati sulla proteina Spike
  - Gli attuali vaccini basati su sequenze genetiche che codificano la proteina Spike
  - I vaccini basati sul DNA "nudo" che codifica la proteina Spike
  - I vaccini basati sul trasporto da parte di adenovirus della sequenza di DNA che codifica la proteina Spike
  - I vaccini basati sul mRNA che codifica la proteina Spike
4. Approvazione dei vaccini anti COVID-19
  - Valutazione comparativa
5. La risposta immunitaria indotta dai vaccini anti COVID-19
  - Immunità innata
  - Reattività T linfocita dipendente
  - La risposta anticorpale
  - Linfociti B di memoria
  - Valutazione della reazione immunitaria indotta dai vaccini
6. La protezione offerta dai vaccini
  - Protezione dal contagio
  - Protezione dalla COVID grave
  - I richiami successivi, quarta dose, quinta dose...
7. Risposta immunitaria e protezione offerte dalla malattia naturale e dalla vaccinazione
8. Vaccinazione eterologa
9. La sfida dei soggetti fragili
10. Vaccinazione e Long Covid
11. Considerazioni conclusive
12. Executive abstract
13. Knowledge gaps and open questions

<sup>1</sup> Commissione lincea COVID-19: Giovanni Bussolati, Pietro Cappuccinelli, Garrett Fitzgerald, Massimo Livi Bacci, Alberto Mantovani, Gennaro Melino, Maria Concetta Morrone, Giorgio Parisi, Carlo Patrono, Rino Rappuoli, Giuseppe Remuzzi, Giovanni Rezza, Gabriella Santoro, Stefano Schiaffino, Paolo Vineis

## 1. Introduzione

Di fronte al tragico imperversare della pandemia da COVID-19, il mondo dell'immunologia e dei vaccini ha reagito in modo formidabile riuscendo a sviluppare velocemente una serie di vaccini efficaci che, se per ora non sono stati grado di bloccare la pandemia, ne hanno radicalmente cambiato il corso e diminuito la pericolosità. Al primo affacciarsi della pandemia, l'urgenza di sviluppare vaccini anti COVID-19 era stata immediatamente percepita: l'elaborazione dei progetti per la loro messa a punto è iniziata non appena la commissione istituita dal governo cinese per fronteggiare focolai di polmonite d'origine ignota, in persone collegate al mercato del pesce e di animali vivi della città di Wuhan, aveva comunicato, l'isolamento di un nuovo tipo di coronavirus dal liquido del lavaggio bronco-alveolare dei pazienti (rapporto del 7 gennaio 2020; Zhu et al., 2020). Tre giorni dopo, il 10 gennaio 2020, i ricercatori collegati a quella commissione, in collaborazione con l'Università di Sydney, Australia, hanno depositato sul sito GenBank la sequenza dell'RNA del coronavirus appena isolato (Novel 2019 coronavirus genome, 2019). Partendo da queste informazioni è iniziata, in molti Paesi del mondo, la messa a punto dei vari progetti di vaccino e la ricerca del loro finanziamento. L'8 dicembre 2020, solo 332 giorni dall'identificazione del genoma del virus SARS-CoV-2, in Inghilterra è iniziata la campagna vaccinale con un vaccino estremamente innovativo, il BNT162b2 (Comirnaty) della BioNTech - Pfizer, vaccino che il 20 dicembre dello stesso anno è stato approvato per primo dall'Unione Europea (UE) (Fig. 1).



**Figura 1.** Tecnologia e sviluppo di vaccini anti-Covid-19 “alla velocità della luce” (da Rappuoli et al., Proc. Natl Acad. Sci. USA 2021, con permesso).

Presentando alcuni aspetti della situazione attuale questo rapporto intende fornire un ulteriore strumento di aggiornamento e di lavoro. Sul tema della vaccinazione dei bambini ed adolescenti si fa riferimento ad un documento specifico (Accad. Naz. Lincei e Soc It. Pediatria, 2022).

## 2. Lo sviluppo dei vaccini anti COVID-19

Il ruolo dei finanziamenti. Inizialmente i numerosi progetti ideati in molte nazioni del mondo dalle università, dalle piccole ditte di biotecnologie e dagli enti di ricerca sono stati competitivamente selezionati e finanziati da organizzazioni nazionali o internazionali. Spesso fondi di diversa origine hanno contribuito o stanno ancora oggi contribuendo allo sviluppo di uno stesso progetto. I finanziamenti che per primi hanno promosso e coordinato progetti per un vaccino anti COVID-19 sono stati quelli della Coalition for Epidemic Preparedness and

Innovations (CEPI), una fondazione con sede ad Oslo, istituita a Davos nel gennaio 2017 durante il World Economic Forum: la CEPI è costituita da partner internazionali, sia privati sia pubblici, uniti nello scopo di promuovere lo sviluppo e lo stoccaggio di vaccini contro microbi che potrebbero causare nuove e spaventose epidemie. La CEPI ha ricevuto una quantità significativa di fondi dalla Bill & Melinda Gates Foundation, dal Wellcome Trust, dai governi di numerosi Paesi, e anche dalle principali compagnie farmaceutiche multinazionali. Ed è stata proprio la CEPI, insieme a numerose altre iniziative pubbliche e private, che già durante le primissime fasi dell'epidemia di COVID-19 ha attivato, finanziato e coordinato numerosi progetti per la preparazione di vaccini contro il virus SARS-CoV-2 seguendo strategie concettuali e piattaforme tecnologiche tra loro molto diversificate. Questa diversificazione è apparsa subito essenziale proprio perché, per molte malattie, ma principalmente nel caso di una malattia nuova come la COVID-19, era difficile prevedere quale fosse il tipo di vaccino che meglio potesse proteggere (Lurie et al., 2020).

L'Operation Warp Speed. Negli USA, con quest'espressione di slang che allude ad una velocità stellare, l'amministrazione Trump aveva lanciato nel maggio del 2020 una partnership pubblico-privata dotata di un enorme finanziamento a cui, competitivamente, hanno avuto accesso ditte americane ed europee (AstraZeneca/Università di Oxford; Moderna; Johnson&Johnson; Sanofi/GSK; Merck; Novavax). La ditta Pfizer, inizialmente selezionata, è invece uscita dal progetto perché intendeva agire più liberamente da sola, accedendo, comunque a finanziamenti indiretti da parte di questo programma. Nonostante le numerose opacità di questa operazione, caratterizzata da un forte spirito nazionalistico, bisogna riconoscere che è stata portata avanti con grande efficienza e, al momento in cui si scrive, ben 4 dei 6 progetti selezionati e finanziati sono diventati vaccini efficaci, utilizzati da gran parte della popolazione del mondo.

L'approccio dell'Unione Europea (UE). Con una logica nettamente differente da quella statunitense, il 17 giugno e successivamente l'11 novembre del 2020 l'UE ha reso pubblici i criteri per favorire la produzione, l'acquisizione e la distribuzione dei vaccini anti COVID-19. I concetti cardine su cui si è articolata la strategia dell'UE sono:

- a) garantire un accesso tempestivo ai nuovi vaccini da parte di tutti gli Stati membri e delle loro popolazioni;
- b) favorire le condizioni che potessero portare allo sviluppo e produzione di vaccini all'interno dell'UE;
- c) controllare e garantire la qualità, la sicurezza e l'efficacia dei nuovi vaccini prodotti;
- d) ottenere le condizioni meno onerose per l'acquisto delle dosi dei vaccini, mano a mano che queste diventavano disponibili;
- e) guidare una solidarietà globale verso le nazioni del mondo più in difficoltà.

L'acquisto anticipato di dosi di un vaccino che non esiste ancora (*l'Advanced Purchase Agreement, APA*) è un tipo di intervento molto importante che ha permesso all'UE di "prenotare" un numero definito di dosi dei differenti vaccini per poterle in seguito rendere accessibili ai vari Paesi membri. Questa modalità di intervento finanziario era già stata impiegata con successo nel passato per ridurre il rischio finanziario delle ditte che si avventuravano nella messa a punto di un nuovo vaccino. I contratti APA, stabiliti con le singole ditte produttrici in base alle loro specifiche esigenze, hanno il duplice obiettivo di favorire lo sviluppo del vaccino in cambio del diritto di acquistarne un determinato numero di dosi avendone stabilito il prezzo per persona e la tempistica di consegna, se e quando il vaccino fosse stato validato ed approvato: questi importanti vincoli, però, non sono sempre

stati rispettati dalle ditte produttrici, dando luogo a contrasti legali (Accad. Naz. Lincei, 2020b).

Verso una più equa distribuzione dei vaccini anti-COVID-19. Il massiccio ed essenziale contributo da parte di enti pubblici e governativi che negli USA, nell'UE e in altri Paesi ha assistito lo sviluppo dei vaccini anti COVID-19, apre una serie di complesse valutazioni sulla proprietà intellettuale dei brevetti su cui questi vaccini si basano e sulla necessità di cercare di raggiungere un'equa distribuzione dei vaccini tra i Paesi del mondo, tenendo presente l'enorme disuguaglianza che si è venuta a creare. Secondo i dati più recenti, mentre oltre il 64% della popolazione mondiale ha ricevuto almeno una dose di un vaccino anti COVID-19, spesso meno del 14% delle persone che vivono in paesi a basso reddito ha avuto accesso ad almeno una somministrazione di vaccino (Our World In Data, 2022; Hunter et al., 2022).

Numerosi enti internazionali, tra cui in primo luogo l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS), hanno insistito nel mettere in evidenza che da una pandemia o ci si salva tutti insieme o non se ne esce. Questa affermazione risulta, però, essere tanto proclamata quanto poco creduta e seguita da fatti concreti. Oltre ad una fondamentale giustizia sociale, considerata imprescindibile da molti, ma scetticamente qualificata come *fraternity romanticism* da altri, vi sono almeno due ragioni pratiche alla base della necessità di distribuire equamente i vaccini: la difficoltà di praticare un libero interscambio con i Paesi in cui la popolazione non sia adeguatamente vaccinata e, elemento ancora più importante, l'insorgenza di nuove pericolose varianti del virus più probabile dove l'infezione può continuare a circolare con maggiore libertà grazie al minor numero di persone vaccinate. Di fatto, l'insorgenza di nuove varianti virali è favorita in quelle popolazioni che hanno uno scarso accesso ai vaccini e in cui non sono rare le immunodeficienze dovute a carenze alimentari, AIDS, malattie parassitarie (Msomi et al., 2021).

Per cercare di facilitare l'accesso ai vaccini da parte di tutti gli abitanti della terra, l'OMS insieme ad altre organizzazioni ha elaborato l'iniziativa COVAX, un partenariato globale di condivisione dei vaccini anti COVID-19 (COVAX, 2020) in cui ha un ruolo essenziale la Global Alliance for Vaccines and Immunization (GAVI). Sfortunatamente quest'iniziativa ha ottenuto un successo solo parziale a causa di un groviglio di problemi diversi. Spesso la COVAX si è trovata ad affrontare ritardi e consegne mancate in parte causati da difficoltà di produzione dei vaccini ma non raramente dovuti alla propensione delle ditte produttrici a privilegiare i Paesi più ricchi. Nei periodi iniziali, quando la pandemia era più rampante ed era evidente un'obiettiva scarsità dei vaccini, i governi dei paesi più ricchi hanno cercato di garantire alla propria popolazione la più diffusa copertura vaccinale possibile. Quest'atteggiamento, spesso definito come predatorio, ma non raramente giustificato da una reale angosciata necessità sociale, ha fatto passare in secondo piano la priorità di condividere i vaccini. Inoltre, aziende che hanno un ruolo centrale nello sviluppo dei vaccini anti COVID-19 come Pfizer e Moderna, che dichiaratamente intendono continuare a trarre profitto dai loro prodotti, hanno dimostrato una vera e propria arroganza finanziaria verso le drammatiche priorità dei Paesi più poveri. La pandemia ha anche messo crudamente in evidenza non solo l'incapacità o la difficoltà dei governi dei Paesi poveri a far valere le proprie priorità, ma anche l'insensibilità dei governi di non pochi di questi Paesi ad affrontare il problema. Inoltre, spesso questi Paesi non dispongono neanche delle infrastrutture elementari necessarie per un'efficace campagna vaccinale: a questa povertà strutturale sono da ascrivere gli inceppamenti nella distribuzione dei vaccini che hanno portato alla distruzione di milioni di dosi lasciate scadere a causa di vincoli burocratici e di difficoltà nella distribuzione. La conseguenza del sommarsi di problematiche di vario genere fa sì che spesso i Paesi con un basso reddito individuale abbiano un limitato accesso ai vaccini o/e abbiano a disposizione vaccini giudicati meno

efficaci, a volte usati come strumenti impropri di influenza geopolitica. Complessivamente, ad oggi sono stati utilizzati circa 28 vaccini diversi, inclusi alcuni basati sul virus inattivato, meno efficaci, e altri basati su piattaforme adenovirali, associati a rare forme di trombosi profonda (come discusso più avanti) e perciò di fatto abbandonati nei Paesi occidentali ad alto reddito (Mallapaty et al., 2021). La conseguenza di tutto ciò è che non solo pochi abitanti dei Paesi più poveri riescano ad accedere ai vaccini, ma che i vaccini siano difficilmente disponibili anche per i pochi operatori sanitari su cui si basa il fragile sistema sanitario di quei Paesi. Al momento di scrivere questo rapporto, pur in una fase in cui i vaccini cominciano ad arrivare in quantità significativa, nei Paesi più poveri africani si stima che solo un operatore sanitario su quattro sia vaccinato. La sfida rimane dunque il percorrere “l’ultimo miglio”, trasformare il vaccino in vaccinazione rafforzando i sistemi sanitari e organizzazioni non governative sul campo (Mantovani, 2022; Hunter et al., 2022). Infine, l’esitazione vaccinale costituisce ora un problema anche nei Paesi a basso reddito, l’Africa in particolare, a causa delle false notizie diffuse in rete a partire dai Paesi ad alto reddito (Mutombo et al., 2022)

I vaccini anti COVID-19 senza brevetto. Non è facile raggiungere pareri condivisi sull’efficacia delle diverse strategie per tendere ad una più equa distribuzione dei vaccini anti COVID-19. Se da una parte si può pensare che la distribuzione di vaccini a basso costo e senza brevetto possa costituire una possibile soluzione del problema, bisogna anche valutare con attenzione quanto questi vaccini, basati su tecnologie più convenzionali, siano realmente efficaci, in modo da evitare di continuare a distribuire ai Paesi più poveri vaccini che i Paesi più ricchi i considerano scadenti o più pericolosi. In altri termini, vale davvero la pena investire nello sviluppo di nuovi vaccini tradizionali senza brevetto la cui efficacia è ancora in gran parte da dimostrare o è più opportuno investire nel rendere accessibili i vaccini, come quelli a mRNA, che fino ad ora si sono dimostrati i più efficaci?

Nell’incertezza su quale sia la strategia che possa offrire rapidamente e diffusamente la protezione migliore è comunque interessante considerare il progetto del vaccino Corbevax, vaccino privo di brevetti sviluppato da Peter Hotez e Maria Elena Bottazzi, codirettori del Center for Vaccine Development del Texas Children’s Hospital, Baylor College of Medicine di Houston. Si tratta di un vaccino proteico sviluppato secondo una tecnologia relativamente tradizionale (vedi più avanti, Vaccini proteici). Ad occuparsi della produzione del vaccino sarà inizialmente una ditta indiana, la Biological E, ma si prevede di espanderne la produzione con la ditta BioPharma in Indonesia, la ditta Incepta in Bangladesh, la ditta ImmunityBio negli Stati Uniti ed anche con stabilimenti nei Paesi africani, come il Botswana (Geddes, 2022). Prospettive interessanti e nobili, ma di lungo respiro che si trovano di fronte una pandemia dove la dimensione tempo costituisce una variabile cruciale: la pandemia può prendere aspetti nuovi, il virus SARS-CoV-2 può mutare radicalmente e rendere inefficace il vaccino e può anche cambiare l’atteggiamento del mondo verso i brevetti dei vaccini anti COVID-19. Quando il vaccino del Baylor College sarà disponibile in milioni di dosi, sarà ancora cruciale averlo a disposizione? E quale sarà la protezione indotta in confronto a quella indotta dagli altri vaccini allora disponibili? E quale sarà il costo per dose? Sarà davvero inferiore a quello di vaccini resi accessibili a prezzo di costo, come il ChAdOx1 sviluppato a Oxford?

I vaccini anti COVID-19 come un *common good*. Nel momento in cui si scrive, le popolazioni di numerosi Paesi a basso reddito non hanno comunemente accesso ai vaccini migliori ma, eventualmente o, solo a vaccini poco efficaci, mentre con uno sforzo finanziario davvero limitato da parte delle nazioni più ricche sarebbe possibile rendere rapidamente disponibili i vaccini migliori, abbassandone il costo, aumentandone la produzione e mettendo le basi per una produzione locale.

A questo proposito, si deve considerare che le ditte produttrici di vaccini hanno acquisito e continuano ad acquisire profitti elevati, partendo in gran parte da capitali di rischio messi a disposizione da finanziamenti pubblici. Proprio perché sono le produttrici di un bene globale essenziale, un *common good* necessario all'intera collettività umana, le ditte produttrici hanno acquisito speciali obblighi morali, obblighi che fino ad ora sembrano essere stati in larga misura ignorati (Emanuel et al., 2021). Un vaccino che offra protezione contro una pandemia si trasforma da bene privato a bene comune, anzi a bene comune globale perché la portata del beneficio può dispiegare il proprio effetto a tutto il pianeta. Contribuire alla vaccinazione di popolazioni che hanno difficoltà a dotarsi di una copertura vaccinale è un modo di contribuire alla diffusione di un bene pubblico globale. Non dovrebbe, quindi, essere controversa l'idea che considerare i vaccini come un essenziale bene pubblico globale significhi che la soluzione a un problema comune e drammatico come questa pandemia sia responsabilità di tutti. Benché per alcuni Paesi e per alcune ditte lo sviluppo dei vaccini anti COVID-19 abbia assunto la forma di una competizione, trasformandola in una manifestazione di potere e di supremazia tecnologica nazionale, un simile approccio non può essere ritenuto coerente con i valori e i principi che governano il diritto internazionale e la *global governance* e confligge con l'affermazione che le minacce globali sono una questione di interesse collettivo. Al contrario, un accesso più uniforme ai vaccini anti COVID-19 dovrebbe essere considerato come un diritto, dal momento che questo garantisce la parità di possibilità di sopravvivenza agli individui e di resilienza alle società (Accad. Naz. Lincei, 2020b; Hunter et al., 2022).

Il tema della sospensione dei brevetti come rimedio alla disuguaglianza di accesso ai vaccini è controverso. I principali argomenti a sostegno del mantenimento dei brevetti sono di due ordini. Si argomenta che la loro sospensione disincentiverebbe l'investimento in compagnie *high risk/high gain* che in un lungo arco di tempo di 10-20 anni hanno costruito le basi tecnologiche, ad esempio la rivoluzione dei vaccini a mRNA che adesso possono essere messi a punto alla "velocità della luce". Ancora, la sospensione avvantaggerebbe di fatto produttori *for profit* in Paesi a medio reddito come Cina e India. D'altra parte, la sospensione dei brevetti in tempo di pandemia è stata spesso considerata come l'attuazione di un importante principio morale che, tuttavia, ha uno scarso significato pratico a causa delle enormi difficoltà tecnologiche che si sarebbero dovute superare in paesi non avanzati per riprodurre i vaccini più innovativi. All'inizio del 2022 la dimostrazione da parte dei ricercatori dell'Afrigen Biologics and Vaccines di Città del Capo in Sudafrica, di essere riusciti a riprodurre il vaccino a mRNA di Moderna ha fatto assumere un aspetto del tutto nuovo a questa disputa: ne è conseguito il lancio, da parte dell'OMS, di un progetto per produrre vaccini a mRNA in Sud Africa, avendo come principale punto di riferimento proprio la compagnia Afrigen Biologics and Vaccines e formando scienziati locali (Nature Editorial, 2022). Sempre all'inizio del 2022, la ditta Moderna ha invece annunciato di voler costruire in Kenya un impianto per la produzione locale di oltre 500 milioni di vaccini a mRNA. Per di più, quasi contemporaneamente, la ditta tedesca BioNTech ha comunicato che entro la fine dell'anno invierà in Ghana, Ruanda e Senegal moduli delle dimensioni di un container al cui interno si trovano tutte le sofisticate apparecchiature necessarie per fabbricare vaccini a mRNA e che formerà personale tecnico locale.

È difficile prevedere i tempi con cui queste iniziative si potranno realizzare e quanto tempo sarà necessario per riuscire ad incidere sulla cultura tecnologica di alcune nazioni africane e sulla disponibilità reale dei vaccini a mRNA nei Paesi più poveri, ma certamente queste sono tre iniziative che potrebbero aprire interessanti, se non rivoluzionarie prospettive non solo per quanto riguarda la COVID-19 ma anche rispetto a possibili future pandemie (Arthur,

2022). Con lo scopo di risolvere o almeno di attenuare il problema nel più breve tempo possibile, Ngozi Okonjo-Iweala, la straordinaria e dinamica direttrice dell'Organizzazione Mondiale del Commercio (World Trade Organization, WTO), da tempo sta lavorando sulla possibilità di una sospensione dei brevetti dei vaccini anti COVID-19 e, alternativamente, sulla possibilità della concessione di licenze: questo, esplorando le differenti vie per incentivare la produzione dei vaccini e la loro distribuzione nelle aree povere del mondo, qualunque sia la tecnologia e qualunque sia l'accordo commerciale che si riesca a stabilire. Combattivamente, il 15 Marzo 2022 Ngozi Okonjo-Iweala è riuscita ad ottenere un primo iniziale compromesso tra l'UE, gli Stati Uniti, l'India e il Sud Africa sull'esonero dei diritti di proprietà intellettuale riguardo i vaccini COVID-19, compromesso che autorizza ad utilizzare ingredienti e processi brevettati per la produzione e la fornitura di vaccini COVID-19 anche senza il consenso del titolare del brevetto. Devono ancora essere definiti numerosi dettagli di importanza critica, ma certamente questo è un primo essenziale passo avanti (Zarocostas, 2022). Su questa linea, il 12 Maggio 2022 il Presidente Biden ha annunciato che 11 brevetti relativi a tecnologie mediche sviluppate presso il National Institutes of Health (NIH), ottenuti con i finanziamenti federali per la costruzione dei vaccini anti COVID-19, sono stati inseriti nel Technology Access Pool organizzato dalla OMS, una mossa questa che promette di rendere più facile per i paesi a basso e medio reddito l'accesso a vaccini, farmaci e strumenti diagnostici per la COVID-19 (Cohen, 2022).

Non bisogna, infatti, mai dimenticare che quella dei vaccini in presenza di una pandemia è una lotta contro il tempo. Non c'è tanto bisogno di un vaccino che sia fantastico tra cinque anni, quanto invece di un vaccino efficace che sia disponibile nei prossimi mesi contro le nuove varianti del virus e che possa essere offerto ad un grande numero di persone nei Paesi in cui l'accesso ai vaccini è difficoltoso spesso a causa della inefficienza dei servizi sanitari commista a motivi biicamente commerciali ed economici. A medio/lungo termine, è inaccettabile che un continente come l'Africa con 1.3 miliardi di abitanti dipenda per il 99% da vaccini prodotti in altri continenti. Se per l'oggi la sfida è la condivisione dei vaccini, e soprattutto l'ultimo miglio da percorrere rafforzando i sistemi sanitari, la sfida di medio/lungo termine è la crescita e autonomia tecnologica di un continente, l'Africa (Mantovani, 2022).

### **3. Le piattaforme tecnologiche: l'aspetto formidabile della creatività umana.**

Attualmente nel mondo sono stati approvati e distribuiti circa 28 diversi vaccini efficaci contro la COVID-19. Di questi, fino al momento in cui si scrive sono state somministrate circa 12 miliardi di dosi, un risultato eccezionale, raggiunto in un tempo molto breve. Di fronte a questa varietà di progetti ed alla determinazione e alla rapidità con cui sono stati portati a termine non si può non rimanere ammirati della creatività scientifica e tecnologica umana. Anche se questi vari vaccini sono in un certo modo in competizione tra loro e sono contrassegnati da segreti tecnologici e industriali, la loro formulazione deriva dalla ricerca scientifica di base, che si struttura, invece, come una condivisione delle conoscenze aperta a tutti i laboratori del mondo (Fig. 1; Rappuoli et al., 2021; Forni e Mantovani, 2021).

Se questi diversi vaccini possono essere raggruppati sulla base delle diverse piattaforme tecnologiche utilizzate per la loro produzione, tutti i vaccini anti COVID-19 fino ad ora disponibili sono diretti verso due bersagli: o l'intero virus SARS-CoV-2 o la molecola proteica Spike che protrude all'esterno del capsido virale (Forni, Mantovani 2021). I grandi aggregati trimerici della proteina Spike che sporgono dalla superficie dei virioni giocano infatti un ruolo centrale nell'aggancio del virus SARS-CoV-2 alle cellule umane. Benché vaccini diversi possano essere stati sviluppati su un'identica piattaforma tecnologica, ogni vaccino ha però peculiarità

che lo rendono unico, in quanto particolari apparentemente poco rilevanti possono influenzarne l'efficacia o la durata della protezione indotta o la sicurezza e la tollerabilità.

Gli attuali vaccini basati su virus SARS-CoV-2 inattivati. Questa piattaforma tecnologica basata su microrganismi uccisi (vaccini inattivati) è parte di una strategia tradizionale, che nel passato ha portato alla produzione di numerosi vaccini. Tuttavia, la coltura e l'inattivazione di triliardi di virus sono operazioni che possono comportare seri rischi di biosicurezza. I vaccini ottenuti con questa tecnologia hanno anche lo svantaggio di indurre una memoria immunitaria di breve durata, che richiede l'inoculazione di maggiori quantità di vaccino e l'associazione del microrganismo ucciso con un adiuvante che stimoli l'immunità innata inducendo una piccola infiammazione limitata alla zona d'inoculo. D'altro canto, i vaccini di questo tipo sono facili da maneggiare perché non richiedono una stringente catena del freddo, si possono conservare per lunghi periodi, sono poco costosi da produrre e sono sicuri (Accad. Naz. Lincei, 2018).

TABELLA 1. Nove vaccini anti SARS-CoV-2 attualmente in uso, basati sul virus SARS-CoV-2 intero inattivato.

<b>Nazione</b>	<b>Compagnia</b>	<b>Nome del vaccino</b>	<b>Adiuvante</b>	<b>Dosi somministrate</b>
Cina	Sinovac	CoronaVac	Sali di alluminio	2 500 000 000
Cina	Sinopharm	BBIBP-CorV	Sali di alluminio	2 300 000 000
Cina	Shenzhen Kangtai	SKvax	Sali di alluminio	20 000 000
India	Bharat Biotech	Covaxin	Algel-IMDG <sup>a</sup>	205 000 000
Iran	Iran Ministry Defernce	Fakhravac	NT <sup>b</sup>	8 000 000
Iran	Shafa Pharmed Pars	COVIran BarekaT	NT	20 000 000
Kazakistan	Res Inst Biol Safety Probl	QazVac	Sali di alluminio	3 000 000
Russia	Russian Acad Sciences	CoviVac	Sali di alluminio	5 000 000
Turchia	Erciyes University	Turkovac	Sali di alluminio	40 000 000

<sup>a</sup>Algel=Sali d'alluminio; IMDG= Agonista dei Toll Like Receptors 7/8

<sup>b</sup>Non trovato

Se da una parte la vaccinazione con il virus SARS-CoV-2 inattivato chimicamente induce una risposta immunitaria verso numerose componenti del virus, alcune delle quali non contribuiscono alla resistenza all'infezione, d'altra parte l'articolata risposta immunitaria risulta meno sensibile alle mutazioni del virus: come conseguenza, tali vaccini potrebbero mantenere la loro efficacia verso varianti diverse del SARS-CoV 2 che insorgessero successivamente.

Il virus SARS-CoV-2 viene inattivato sfruttando diversi metodi chimici, comunemente con il beta-propiolattone. Tutti questi vaccini-candidati vengono iniettati per via intramuscolare. Quando disponibili, i rapporti degli studi di Fase 1 e 2 suggeriscono che i vaccini inattivati siano sicuri ed inducano un elevato titolo di anticorpi. In spregio a prassi ben codificate nella pratica della vaccinologia, larghe fasce della popolazione mondiale sono state trattate con questi vaccini prima che fossero condotti o terminati studi controllati di Fase 3 intesi a valutarne la reale efficacia, e senza che fossero attivati studi mirati a stimarne i possibili effetti collaterali. I dati emersi successivamente dagli studi di Fase 3 sulla protezione indotta dai vaccini della Sinovac, della Sinopharm e della Bharat Biotech forniscono indicazioni di efficacia che variano drasticamente (dal 50 all'83%) a seconda del Paese in cui lo studio è stato condotto. I vaccini della Sinovac, della Sinopharm e della Bharat Biotech sono i soli di

questo gruppo ad essere stati approvati dall'OMS. Spesso meta-analisi condotte allo scopo di paragonare l'intensità della risposta immunitaria indotta dai vari vaccini, mettono in evidenza che i vaccini anti COVID-19 basati su virus inattivati inducono risposte meno intense e più transitorie (Khoury, 2021).

Gli attuali vaccini basati sulla proteina Spike. Sono numerosi i vaccini basati su proteine presenti sulla superficie dei microbi (Accad. Naz. Lincei, 2018). Inizialmente, queste proteine venivano purificate dai microrganismi, mentre oggi, nella maggior parte dei casi, la proteina utilizzata per vaccinare viene prodotta *in vitro* mediante la tecnologia del DNA ricombinante o, nel caso in cui il vaccino consista in sequenze più brevi di aminoacidi, cioè peptidi, questi vengono generati tramite sintesi chimica.

Il vaccino EpiVacCorona della ditta russa Bektop è il solo, tra i vaccini attualmente in uso, basato su peptidi della proteina Spike generati per sintesi chimica. E' un vaccino che può essere conservato per lunghi tempi nei normali frigoriferi.

Gli altri vaccini proteici vengono invece ottenuti con la tecnologia del DNA ricombinate: per questi, la scelta della linea cellulare per produrre la proteina da utilizzare, l'aggregazione della proteina e le caratteristiche dell'adiuvante che le verrà associato costituiscono tre variabili che ne caratterizzano in modo significativo l'immunogenicità. La linea cellulare prescelta non solo influenza l'efficienza della produzione della proteina Spike o di suoi frammenti, ma anche le caratteristiche della loro glicosilazione, da cui dipendono la conformazione tridimensionale, la stabilità, la persistenza in circolo e quindi l'immunogenicità. Si tratta, quindi, di adattare al virus SARS-CoV-2 piattaforme tecnologiche già ampiamente utilizzate nella formulazione di vaccini per uso umano come il vaccino contro l'epatite B, la pertosse, il papilloma virus ed altri.

TABELLA 2 Dodici vaccini anti-SARS-CoV-2 attualmente in uso, basati sulla proteina Spike o su suoi frammenti.

Peptidi della proteina Spike

Nazione	Compagnia	Nome del vaccino	Produzione	Adiuvante	Dosi somministrate
Russia	Bektop	EpiVacCorona	Sintesi chimica	Sali di alluminio	5 000 000

Proteina Spike o suoi frammenti

Nazione	Compagnia	Nome del vaccino	Produzione in cellule di:	Adiuvante	Dosi somministrate
Australia	Vaxine	Spikogen	insetto	Microcrist inulina	NT <sup>a</sup>
Canada	Medicago <sup>b</sup>	Co-VLP	pianta di tabacco	N57-As01	NT
Cina	Sinopharm	NVSI-06-07	criceto	Sali di alluminio	100 000
Cina	Anhui Zhifei Longcom	Zifivax	criceto	Sali di alluminio	50 000 000
Cuba	Centro Ing Genetica Biot	Abdala	lievito	Sali di alluminio	35 000 000
Cuba	Inst Finlay de Vacunas	Soberana02	criceto	Sali di alluminio	7 000 000
Cuba	Inst Finlay de Vacunas	SoberanaPlus	criceto	Sali di alluminio	7 000 000
Iran	Razi Vac Serum Res Inst	Raazi	NT <sup>a</sup>	Sali di alluminio	5 000 000
Taiwan	Medigen	Medingen vax	NT	CpG	3 000 000
USA	Baylor College Med	Corbevax	lievito	Sali di alluminio	NT
USA	Novavax	Nuvaxovid	falena	Matrix M	12 000 000

<sup>a</sup>NT, non trovato.

<sup>b</sup> approvato in Canada

In questo gruppo, particolarmente innovativo è il vaccino proteico Co-VLP prodotto dalla Medicago, una ditta canadese collegata alla Philip Morris che, per la produzione, utilizza piante di tabacco, *Nicotiana benthamiana*, in cui è stato inserito il gene della proteina Spike. Le proteine Spike estratte dalle foglie delle piante vengono aggregate in formazioni simili a quelle di un virus (*virus like particles*) ed utilizzate nella vaccinazione in associazione all'adiuvante N57-As01 messo a punto dalla GSK di Siena. Questo adiuvante, costituito da un lipopolisaccaride della *Salmonella minnesota* e da una saponina estratta dalla corteccia dell'"albero del sapone" (*Quillaja saponaria*), stimola la differenziazione dei linfociti Th2, dei linfociti B in plasmacellule a vita lunga e dei linfociti T citotossici (Didierlaurent, 2017).

Il vaccino cubano Soberana2 è un vaccino coniugato costituito dalla proteina Spike legata covalentemente al tossoide tetanico. Il vaccino Soberana plus, invece è costituito da due delle porzioni più esterne della proteina Spike, cioè da due *Receptor Binding Domain* (RBD) legati tra loro. I tre vaccini cubani comprendono come adiuvante sali di alluminio (Alum), un adiuvante tradizionale molto ben conosciuto ed ampiamente utilizzato (Accad. Naz. Lincei, 2018).

L'Alum è impiegato come adiuvante anche nel vaccino senza brevetto Corbevax del Baylor College, USA: in questo caso il gene che codifica il RBD della proteina Spike viene introdotto nelle cellule di lievito (vedi sopra I vaccini anti COVID-19 senza brevetto).

Nel caso del vaccino dell'americana Novavax, il Nuvaxovid, - l'unico vaccino proteico fino ad ora approvato dall'UE e disponibile in Italia -, il gene per la proteina Spike viene veicolato da un baculovirus entro le cellule di una falena, la *Spodoptera frugiperda*: un sistema messo a punto da Gale Smith nel 1983, che consente una produzione proteica particolarmente efficiente (Smith, 1983). Le glicoproteine Spike che così vengono prodotte sono poi aggregate in nano-particelle, ciascuna costituita da 14 monomeri della proteina Spike. In questo vaccino viene utilizzato l'adiuvante Matrix-M, costituito da due frazioni della saponina che stimolano l'attivazione sia dei linfociti Th1 che dei linfociti Th2.

Gli attuali vaccini basati su sequenze genetiche che codificano la proteina Spike. I vaccini genetici, basati sul DNA o sull'mRNA, sono concettualmente assai semplici in quanto si tratta di far arrivare la sequenza genica, che codifica la proteina verso cui si vuole indurre la risposta immunitaria, direttamente nelle cellule dell'organismo umano: queste produrranno quindi, per un tempo limitato, la proteina correttamente glicosilata, inducendo così una risposta immunitaria ottimale. Le tecnologie basate sul DNA e sull'mRNA permettono di modificare con facilità, rapidità e precisione la proteina codificata. E sono proprio la rapidità con cui oggi possono essere messi a punto i vaccini genetici, e la duttilità delle tecnologie applicate i due vantaggi essenziali nella progettazione di vaccini in tempo di pandemia contro un virus a RNA che evolve velocemente in nuove varianti (Fig. 1). Se si rivelasse necessario, la duttilità di queste tecnologie dovrebbe permettere di modificare rapidamente i vaccini attuali in modo da renderli più specifici per le eventuali mutazioni del virus.

I vaccini basati sul DNA "nudo" che codifica la proteina Spike. Vaccini basati su sequenze di DNA sono comunemente usati in medicina veterinaria e sperimentale perché sono stabili, non sono costosi da mettere a punto e possono essere facilmente prodotti in grandi quantità nei batteri. Una volta iniettati nel muscolo o nel derma, i plasmidi di DNA entrano direttamente nelle cellule dell'organismo da vaccinare. L'ingresso del plasmide può essere facilitato e potenziato da un impulso elettrico locale molto breve (elettroporazione) o con altri metodi. Una volta entrato nella cellula, il DNA plasmidico dà inizio alla produzione temporanea della proteina codificata, verso cui si vuole indurre la risposta immunitaria; sequenze CpG inserite nel plasmide fungono da adiuvante. Inoltre, i vari metodi utilizzati per facilitare la

penetrazione endocellulare dei plasmidi possono attivare una piccola risposta infiammatoria locale che, attirando le cellule che presentano l'antigene ai linfociti T - le *antigen presenting cell* (APC) - potenzia notevolmente la risposta immunitaria, stimolando non solo la produzione di anticorpi ma anche l'attivazione di intense risposte dipendenti dai linfociti T (Cavallo et al., 2006).

Nonostante i vari progetti, attualmente esiste un solo vaccino a DNA registrato per uso umano, lo ZyCoV-D (Tabella 3), che utilizza un iniettore ad alta pressione della PharmaJet, USA: questo permette ad una piccola quantità di liquido (0,5 ml) di superare in modo indolore lo strato corneo della cute, e di raggiungere il derma. Questo sistema senza ago costituisce un metodo di vaccinazione particolarmente sicuro ed efficiente nelle vaccinazioni di massa (Khobragade, 2022).

TABELLA 3. Cinque vaccini anti-SARS-CoV-2 attualmente in uso, basati su sequenze di DNA che codificano la proteina Spike.

<u>DNA nudo</u>					
Nazione	Compagnia	Nome del vaccino	Somministrazione	Adiuvante	Dosi somministrate
India	Zydus Cadila	ZyCoV-D	Iniettore a pressione	CpG	NT <sup>a</sup>
<u>DNA veicolato da adenovirus</u>					
Nazione	Compagnia	Nome del vaccino	Trasportato da adenovirus:	Adiuvante	Dosi somministrate
Cina	CanSinoBio	Convidecia	umano AD26	--	200 000 000
Inghilterra	Oxford/AstraZeneca/	} Vaxzevria	scimpanzé	--	2 400 000 000
India	Serum Institute of India				
Russia	Gamaleya Research Inst	Sputnik V	umano AD5/Ad26	--	300 000 000
USA	Johnson&Johnson	Ad26.COVS.2.S	umano Ad26	-	300 000 000

<sup>a</sup>Non trovato.

I vaccini basati sul trasporto da parte di adenovirus della sequenza di DNA che codifica la proteina Spike. Un problema fondamentale comune ai vaccini genetici consiste nel come fare arrivare la sequenza di DNA o l'mRNA all'interno delle cellule della persona da immunizzare. Un metodo molto vantaggioso sfrutta la grande capacità dei virus di trasportare sequenze di DNA all'interno delle cellule. In effetti, già agli inizi della terapia genica, gli adenovirus, una grande famiglia di virus a doppio filamento di DNA con più di 150 sierotipi, erano parsi dei trasportatori molto efficaci (Mendonca et al., 2021). Gli adenovirus utilizzati come trasportatori vengono resi *gutless*: in questi i geni E1 e/o E3, responsabili della replicazione virale, vengono eliminati e sostituiti con il gene di interesse. Il basso costo della produzione degli adenovirus trasportatori, incapaci di replicarsi, la loro termostabilità, la non integrazione del DNA trasportato con quello dell'ospite e l'efficienza del trasporto nelle cellule di molti tessuti posizionano gli adenovirus *gutless* tra i vettori virali più immunogenici, ampiamente utilizzati per sviluppare vaccini candidati per varie malattie infettive come la

sindrome da immunodeficienza acquisita (AIDS), la malattia da virus Ebola, la malattia da virus Zika, la malaria e la tubercolosi.

Un limite di questa tecnologia, subito riconosciuto, consiste nel fatto che con la prima vaccinazione, insieme alla risposta immunitaria desiderata -verso la proteina codificata dalla sequenza di DNA inserita nel virus-, l'organismo elabora anche una reazione contro l'adenovirus trasportatore. Di conseguenza, le vaccinazioni di richiamo diventano meno efficienti, in quanto l'adenovirus trasportatore viene rapidamente inattivato dagli anticorpi anti-virus indotti dalla prima vaccinazione. Inizialmente, quindi, i vaccini di questo tipo sono stati progettati come vaccini che non avrebbero dovuto necessitare di un successivo richiamo: ne è un esempio il vaccino Ad26.COVS di Johnson&Johnson. È tuttavia in seguito emersa la necessità dei richiami al fine di mantenere un'efficace protezione contro il virus SARS-CoV-2. Si è quindi cercato di superare questa difficoltà allungando di molto l'intervallo tra la prima e la seconda somministrazione, in modo che il lungo intervallo portasse alla diminuzione degli anticorpi che neutralizzano l'adenovirus trasportatore: è questo il caso del vaccino ChAdOx1 (Vaxevria) Oxford Inst. - AstraZeneca. Nel caso del vaccino russo Sputnik V, il problema del richiamo è stato in parte superato utilizzando adenovirus trasportatori di sierotipo diverso per la prima e la seconda vaccinazione: con questo accorgimento l'immunogenicità del vaccino Sputnik V viene anche aumentata (Dobrovidova, 2022).

Un altro problema posto dall'impiego degli adenovirus come vettori dipende dal fatto che questi sono responsabili del 5-10% dei raffreddori, faringiti e tonsilliti invernali: è quindi possibile che molte delle persone che vengono vaccinate abbiano già sviluppato anticorpi contro l'adenovirus trasportatore a causa di infezioni precedenti. In effetti, dati provenienti da studi sia con animali che con i volontari indicano che l'immunità verso l'adenovirus trasportatore, conseguente ad una precedente infezione, possa mitigare notevolmente la sua capacità di convogliare il gene all'interno delle cellule umane. Questo problema può essere superato utilizzando come trasportatori sierotipi di adenovirus con bassa prevalenza nella popolazione umana. Alternativamente, sono stati utilizzati adenovirus di primati, verso cui è improbabile che una persona abbia sviluppato anticorpi. L'esperienza acquisita da Riccardo Cortese (1944-2017) sull'utilizzazione di adenovirus di primati come trasportatori (Stanley et al., 2014) è stata sfruttata su base collaborativa dai ricercatori del Jenner Institute dell'Università di Oxford: ne è scaturito il vaccino ChAdOx1 (Vaxevria), basato su un adenovirus trasportatore di scimpanzé, verso cui è improbabile che una persona abbia prodotto anticorpi. Lo sviluppo di questo vaccino è stato, però, segnato da una serie di errori che, insieme all'evidenza dell'induzione di una rara forma di trombosi profonda nelle persone giovani, hanno spinto vari Paesi a decidere di non più utilizzarlo (Schultz et al., 2021). La sua termostabilità, la sua efficacia ed il prezzo molto basso hanno però fatto sì che questo vaccino, prodotto su licenza dal Serum Institute of India (il Covidshield) sia uno dei vaccini anti COVID-19 più utilizzati nel mondo (Tabella 3). È stato stimato che sia questo vaccino, reso disponibile da Astra Zeneca al prezzo di costo sulla base dell'accordo con l'Università di Oxford, quello che, ha salvato più vite su scala globale.

I vaccini basati sull'mRNA che codifica la proteina Spike. Pur essendo il risultato di tecnologie molto sofisticate, concettualmente questi vaccini sono ancora più semplici, in quanto si tratta di nanoparticelle lipidiche che contengono al loro interno l'RNA messaggero (mRNA) che codifica una forma, variamente stabilizzata, della proteina Spike. Si ritiene che, una volta inoculate intramuscolo, le nanoparticelle lipidiche vengano catturate dalle cellule sentinella del sistema immunitario, le cellule dendritiche, e che siano queste cellule ad innescare la risposta immunitaria (Geall et al., 2012; Li et al., 2022; Topol, 2021).

Prima di questa pandemia non c'erano vaccini a mRNA approvati per l'uso umano anche se, da tempo, alcune ditte di biotecnologie avevano messo a punto questa raffinata tecnologia. Nel 1987 le osservazioni sperimentali di Robert Malone, che lavorava al Salk Institute for Biological Studies a La Jolla, California, avevano dimostrato che era possibile far produrre da una cellula umana la proteina codificata da un mRNA se lo si faceva arrivare dentro alla cellula veicolato all'interno di una micro-goccia lipidica. Gli studi successivi, che cercavano di sfruttare *in vivo* questa tecnologia, per molti anni non hanno avuto successo. Col passare del tempo, però, grazie alle osservazioni pubblicate da numerosi ricercatori, - tra cui principalmente Katalin Karikó e Drew Weissman (Karikó et al., 2005) - e grazie agli sforzi di diverse aziende biotecnologiche e farmaceutiche, questa tecnologia si è progressivamente evoluta. Nel frattempo, gli studi sugli animali avevano già messo in evidenza la rapidità con cui, una volta ottenuta la sequenza genetica di un agente patogeno, è possibile produrre l'mRNA che, avvolto e protetto da una nano-vescicola lipidica (*lipid nanoparticles*, LNPs) e inoculato nel muscolo, induce una forte risposta immunitaria. Capitalizzando su queste esperienze, pochi giorni dopo che la sequenza del genoma di SARS-CoV-2 era stata condivisa dai ricercatori cinesi, Moderna negli USA e BioNTech in Germania avevano già pronto il prototipo di un possibile vaccino a mRNA (Fig.1). Per queste ditte si è trattato di adattare al SARS-CoV-2 una tecnologia già messa a punto, adattamento che entrambe le ditte hanno portato a termine in un tempo brevissimo (Dolgin, 2021)

TABELLA 4. Due vaccini anti-SARS-CoV-2 attualmente in uso, basati sull'mRNA che codifica la proteina Spike.

Nazione	Compagnia	Nome del vaccino	Veicolato da :	Adiuvante	Dosi somministrate
USA	BioNTech Pfizer	Comirnaty	LNPs	Nessuno	2 400 000 000
USA	Moderna	Spikevax	LNPs	Nessuno	700 000 000

#### 4. Approvazione dei vaccini anti COVID-19.

Dopo l'ideazione in laboratorio e alcune prove sperimentali sugli animali, i vaccini vengono studiati sull'uomo in una serie di studi clinici successivi, detti di Fase 1, Fase 2 e Fase 3. Gli studi di Fase 1 sono condotti su pochi volontari per accertare il giusto dosaggio del vaccino, gli eventuali inconvenienti suscitati e la sua capacità di attivare una risposta immunitaria. Se il vaccino supera questa fase, la sua sicurezza e la sua efficacia vengono controllate di nuovo in studi più ampi, detti di Fase 2, eseguiti su qualche centinaio di persone di entrambi i sessi e di differente età. Se anche in questi studi il vaccino fornisce risultati promettenti, esso viene valutato in ampi e complessi studi di Fase 3 che coinvolgono da diecimila a trentamila o più persone distribuite nelle diverse aree del mondo dove la pandemia è più rampante. In questi studi, una parte dei volontari viene vaccinata mentre un'altra parte riceve un placebo. Si tratta di studi "in doppio cieco" in quanto né i volontari né il personale sanitario coinvolto possono sapere se a un volontario venga somministrato il vaccino o il placebo. Per stimare l'efficacia del vaccino, occorre attendere che il numero di persone che si sono ammalate sia tale da permettere una valutazione statistica di un'eventuale differenza d'incidenza nei due gruppi. Nel caso di studi di Fase 3 realizzati in periodi di pandemia, il tempo di attesa può essere molto breve; in altre situazioni, invece, questi studi possono durare per anni. Seguendo un numero così ampio di volontari si può ottenere un'indicazione significativa non

solo sull'efficacia del vaccino ma anche su possibili eventi avversi connessi alla sua somministrazione.

Il destino del vaccino dipende dai risultati degli studi di Fase 3: inaccettabili effetti collaterali o deludenti dati di protezione inducono ad abbandonare il progetto. Se invece i dati sono favorevoli, la ditta produttrice può chiedere alla autorità regolatorie delle varie nazioni di valutare i dati preclinici e quelli emersi dagli studi di Fase 1, Fase 2 e Fase 3 e di approvare la somministrazione del vaccino alla popolazione (Tagliabue e Forni, 2020). Nel caso dei vaccini anti-COVID-19, le autorità regolatorie statunitensi hanno indicato che un vaccino, per essere approvato, deve essere in grado di proteggere almeno il 50% delle persone vaccinate.

TABELLA 5. Studi di Fase 3 relativi ai cinque vaccini anti COVID-19 attualmente approvati dall'EU e dall'Italia.

Nazione	Compagnia	Nome del vaccino	Studi di Fase 3	
			Volontari <sup>a</sup>	Efficacia <sup>b</sup>
USA	BioNTech Pfizer	BNT162b2 Comirnaty	44	95% <sup>c</sup>
Inghilterra	Oxford AstraZeneca	ChAdOx1 Vaxevria	24+11	66-90% <sup>c</sup>
USA	Moderna	mRNA-1273 Spikevax	30	93% <sup>c</sup>
USA	Johnson&Johnson	Ad26COV2.S	40	67% <sup>d</sup>
USA	Novavax	NVX-CoV2373 Nuvaxovid	2+15+30	90-96% <sup>c</sup>

<sup>a</sup> x 10<sup>3</sup>.

<sup>b</sup> Efficacia valutata dopo una o due settimane dall'ultima inoculazione.

<sup>c</sup> Vaccino somministrato in due dosi

<sup>d</sup> Vaccino somministrato come singola dose.

Contemporaneamente all'autorizzazione viene anche attivato un piano di osservazione prolungato nel tempo (lo studio clinico di Fase 4 o osservazione *post-marketing*) per valutare nei mesi e negli anni che seguono all'introduzione del vaccino, i possibili eventi avversi gravi, come i ricoveri e i decessi tra le persone a cui il vaccino è stato somministrato. Sulla base di questi nuovi dati, diventerà possibile valutare più accuratamente nel tempo il rapporto rischio-benefico e decidere se prolungare oppure se togliere l'autorizzazione al vaccino, cosa che è avvenuta spesso e sta avvenendo anche durante l'attuale pandemia. A questo scopo, a intervalli regolari l'azienda produttrice deve inviare alle autorità regolatorie tutti i documenti che permettono di identificare, caratterizzare o quantificare un rischio associato al vaccino e di confermarne il profilo di sicurezza. La vigilanza delle autorità regolatorie viene anche effettuata tramite la raccolta delle segnalazioni spontanee degli eventi avversi che seguono la vaccinazione, inviate dai medici, dagli operatori sanitari e dai pazienti. Dalla raccolta e dall'analisi di queste segnalazioni possono emergere indicazioni che meritano ulteriori approfondimenti al fine di smentire oppure confermare il nesso di causalità tra l'evento avverso segnalato e la vaccinazione. Per stabilire l'esistenza di questo nesso di causalità vengono presi in considerazione una serie di elementi, quali l'intervallo tra la vaccinazione e l'insorgenza della reazione, la presenza di fattori predisponenti o concomitanti, la presenza di altri trattamenti potenzialmente responsabili dell'evento avverso e la plausibilità biologica (Accad Naz Lincei, 2018).

Se nel caso dei vaccini anti COVID-19 approvati dall'UE e quindi dall'Italia (Tabella 5) questa prassi è stata seguita con rigore, in altre nazioni l'approvazione dei vaccini durante

l'imperversare di una pandemia che stava creando disperazione e paralisi sociale spesso è stata portata avanti sulla base di valutazioni più pragmatiche del rischio-benefico, valutazioni fortemente influenzate dalle precedenti esperienze con altri vaccini, dall'urgenza e dal contesto politico, più o meno democratico della nazione che ha concesso l'approvazione. La Cina è stata la prima nazione a somministrare ad ampie fasce della popolazione (militari, personale sanitario, persone a rischio, lavoratori essenziali...), prima della conclusione degli studi di Fase3, vaccini anti COVID-19 che nei test sugli animali e negli studi clinici di Fase 1 e Fase 2, limitati a qualche centinaia di persone, erano risultati non pericolosi e capaci di indurre un'immunità protettiva. Il ragionamento sotteso a questa violazione della prassi internazionale sulla validazione dei vaccini era che fosse assai improbabile che quei vaccini potessero rivelarsi dannosi, mentre potevano comunque contribuire a ridurre l'incidenza e la gravità della malattia qualunque fosse la loro reale efficacia protettiva.

Valutazione comparativa. È estremamente difficile procedere ad una valutazione comparativa dell'efficacia dei vari vaccini anti COVID-19 perché gli studi randomizzati controllati vengono svolti seguendo criteri in parte differenti e perché spesso la protezione indotta dal vaccino avviene in contesti epidemiologici diversi e verso differenti varianti del virus SARS-CoV-2. Inoltre, in alcuni casi i dati resi disponibili sono stati oggetto di serie critiche dal punto di vista di eventuali manipolazioni e trasparenza: è questo il caso delle varie fasi di sperimentazione del vaccino adenovirale Sp (Logunov et al., 2020; Logunov et al., 2021; Rearte et al., 2022; Bucci et al., 2021).

Solo col passaggio dalle sperimentazioni cliniche controllate di Fase 3 eseguite su decine di migliaia di volontari, al monitoraggio sul campo su decine di milioni di persone vaccinate è divenuto possibile individuare i casi di trombosi profonda associati al vaccino adenovirale ChAdOx1 (Vaxevria Oxford Inst. - AstraZeneca) e, successivamente, anche all'altro vaccino adenovirale Ad26COV2.S di Johnson&Johnson. Dopo le prime osservazioni di eventi trombotici a livello del seno venoso nel sistema nervoso centrale e del distretto splancnico, sono diventati disponibili dati epidemiologici basati sulla somministrazione del vaccino su centinaia di milioni di persone (Schultz et al., 2021; Greinacher et al., 2021; Scully et al., 2021; Macris et al., 2021; Pavord et al., 2021; Hippisley-Cox et al., 2021). Agli eventi trombotici associati al vaccino ci si è riferiti con nomenclature diverse. In questa sede li definiamo *Vaccine Induced Immune Thrombocytopenia and Thrombosis* (VITT). Gli elementi salienti emersi relativi a VITT possono essere così riassunti: si tratta di eventi estremamente rari stimati dell'ordine di circa 1 su 100.000; gli eventi sono occorsi in soggetti giovani, prevalentemente di sesso femminile e si sono verificati in larga prevalenza dopo la prima dose. In mancanza di dati su vaccini adenovirali diversi dai due sopramenzionati, è ragionevole ritenere che la VITT possa essere connessa con questa piattaforma vaccinale. I meccanismi immunologici alla base della VITT non sono stati del tutto chiariti. La VITT per vari aspetti è simile ad un quadro associato alla somministrazione di eparina (*Heparin-Induced Thrombocytopenia*, HIT). VITT e HIT sono entrambe associate alla comparsa di autoanticorpi diretti contro il fattore piastrinico 4 (PF4), ma i meccanismi patogenetici e l'effettivo ruolo degli autoanticorpi rimangono in larga misura da chiarire.

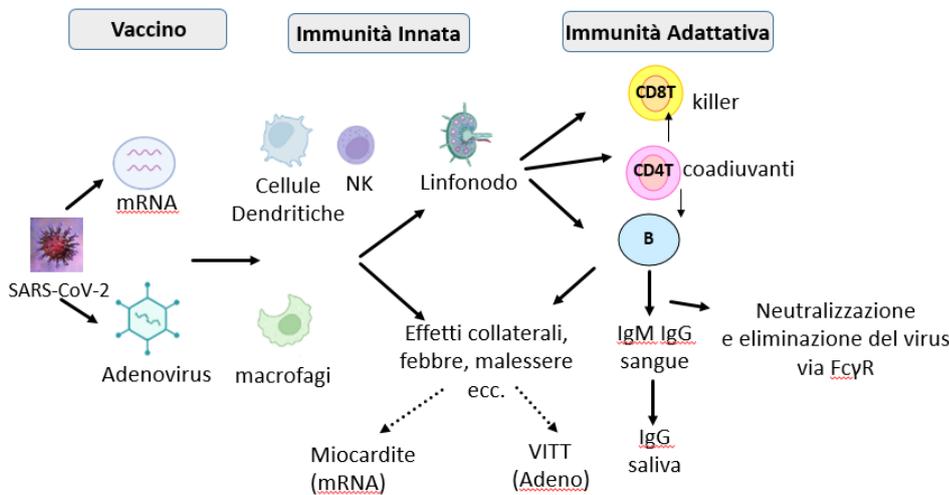
## **5. La risposta immunitaria indotta dai vaccini anti COVID-19.**

Se gli studi randomizzati come quelli sopra riportati mettono bene in evidenza l'efficacia dei vaccini approvati, la reale capacità di questi vaccini di incidere sulla diffusione della pandemia e di provvedere una protezione di lunga durata emerge dagli studi che valutano l'evoluzione nel tempo della risposta immunitaria e da quelli delle analisi epidemiologiche, mirate a

stimare la protezione dopo vario tempo dall'ultimo richiamo e di fronte all'emergere delle nuove varianti del virus SARS-CoV-2.

La Figura 2 riassume in modo schematico i meccanismi della risposta immunitaria attivata dai vaccini più studiati, i due vaccini basati sull'mRNA, BNT162b2 (Comirnaty), BioNTech – Pfizer e mRNA-1273 (Spikevax), Moderna, e il vaccino adenovirale ChAdOx1 (Vaxevria), Oxford Inst.-AstraZeneca.

**Immunità innata.** Dopo la vaccinazione con vaccino a mRNA BNT162b2 (Comirnaty BioNTech - Pfizer) sono state osservate numerose modificazioni epigenetiche e del profilo trascrizionale dei macrofagi, un incremento delle cellule dendritiche attivate, un'aumentata espressione dei Toll Like Receptor (TLR) e la presenza di citochine (IL-10 e interferon gamma) e chemochine



**Figura 2.** La risposta immunitaria indotta da vaccini su piattaforma a mRNA e adenovirale. VITT: Vaccine-Induced Immune Thrombocytopenia and Thrombosis. Le linee punteggiate indicano che la miocardite e VITT sono eventi avversi estremamente rari.

nel siero (Arunachalam et al., 2021; Li et al., 2022). Oltre alla attivazione di monociti-macofagi e cellule dendritiche, è stata rilevata anche una importante risposta delle cellule Natural Killer che producono interferone  $\gamma$  (Li et al., 2022). La somministrazione della seconda dose di BNT162b2 (Comirnaty) è associata a un forte aumento della capacità dei monociti di mediare funzioni effettrici con modificazioni epigenetiche (Arunachalam et al., 2021). Queste osservazioni sollevano la possibilità che almeno i vaccini a mRNA inducano una forma di allenamento (*training*) della prima linea di difesa immunitaria (Mantovani e Netea, 2020). Una forma di *Trained Innate Immunity* è alla base di un certo grado di resistenza indotta da alcuni vaccini (es. Polio orale, BCG) nei confronti di patogeni immunologicamente non correlati al bersaglio del vaccino stesso (*Pathogen Agnostic Protection*).

L'effettiva rilevanza clinica della *Trained Innate Immunity* e della correlata *Pathogen Agnostic Protection* in COVID-19 rimangono da dimostrare, anche se vi sono dati che suggeriscono ad esempio che le donne indirettamente esposte al vaccino anti-polio vivo somministrato per via orale ai loro bambini siano relativamente più resistenti rispetto alle popolazioni di controllo (Habibzadeh et al., 2021; Habibzadeh et al., 2022); inoltre, operatori sanitari vaccinati contro l'influenza hanno mostrato un certo grado di protezione contro la COVID-19 per un periodo limitato di tempo (Tayar et al., 2022).

**Reattività T linfocita dipendente.** Dopo una prima inoculazione del vaccino spesso si osserva una rapida attivazione dei linfociti T citotossici CD8<sup>+</sup>, specifici per i peptidi della proteina

Spike; questa espansione persiste per almeno quattro settimane e viene nuovamente stimolata dai successivi richiami vaccinali (Oberhardt et al., 2021; Goel et al., 2021). I vaccini a mRNA Spikevax (Moderna) e BNT16b2 (Comirnaty, BioNTech - Pfizer) inducono una forte espansione dei linfociti T CD8<sup>+</sup>. Di intensità minore è l'espansione stimolata dal vaccino proteico Nuvaxovid (Novavax), mentre quella indotta dal vaccino Ad26COV2.S (Johnson&Johnson) risulta ancora inferiore (Tarke et al., 2022; Zang et al., 2022).

Più moderata, ma comunque ben evidente è anche l'espansione dei linfociti CD4<sup>+</sup> reattivi verso i peptidi della proteina Spike, che rimane visibile per almeno novanta giorni dell'ultimo richiamo (Loyal et al., 2021). Sei mesi dopo, permane una marcata espansione dei linfociti T CD4<sup>+</sup> di memoria nelle persone che erano state vaccinate con Spikevax. Meno intensa è l'espansione indotta dalla vaccinazione con BNT162b2 (Comirnaty, BioNTech - Pfizer) e con Nuvaxovid (Novavax), mentre un'espansione ancora inferiore fa seguito alla vaccinazione con Ad26.COV2.S (Johnson&Johnson). La popolazione dei linfociti T CD4<sup>+</sup> multifunzionali risulta particolarmente espansa in seguito alla vaccinazione con BNT16b2 Comirnaty (BioNTech - Pfizer), mentre una simile espansione dei linfociti CD4<sup>+</sup> con attività citotossica si osserva nelle persone vaccinate con mRNA-1273 (Spikevax, Moderna) o BNT162b2 (Comirnaty, BioNTech - Pfizer). L'intensità dell'espansione dei linfociti T CD4<sup>+</sup> di memoria indotta da questi vaccini è paragonabile o superiore all'espansione osservata nei pazienti di COVID-19 (Goel et al., 2021; Tarke et al., 2022) e correla direttamente con il titolo e con l'affinità degli anticorpi neutralizzanti presenti nella persona vaccinata (Loyal et al., 2021; Arunachalam et al., 2021; Collier, 2021;). Si deve notare, però, che l'intensità della risposta dei linfociti T è anche marcatamente influenzata dall'età della persona vaccinata: declina progressivamente dopo i 20 anni e si riduce in modo molto netto verso e dopo gli ottant'anni (Collier 2021)

La risposta anticorpale. Numerosissimi studi documentano l'intensa e rapida risposta anticorpale che segue alla vaccinazione e come la presenza ed il titolo degli anticorpi neutralizzanti il SARS-CoV-2 sia il parametro immunitario che direttamente correla con la protezione dal contagio (Khoury et al., 2021). L'analisi comparativa mette in evidenza che titoli anticorpali molto elevati vengono indotti sia dai vaccini a mRNA (Comirnaty), BioNTech - Pfizer e mRNA-1273 (Spikevax) Moderna che dal vaccino proteico Nuvaxovid (Novavax). Anche in questo caso, i titoli sono superiori o eguali a quelli presenti nel siero delle persone che hanno sviluppato un'immunità naturale dopo la guarigione dalla COVID-19. Sempre elevati ma più bassi sono i titoli anticorpali indotti dai vaccini virali ChAdOx1 (Vaxevria, Oxford Inst.– AstraZeneca) e Ad26COV2.S (Johnson&Johnson), mentre ancora inferiori sono i titoli anticorpali indotti dal vaccino basato sul virus SARS-CoV-2 inattivato CoronaVac (Sinovac) (Khoury, 2021; Shrotri 2021; Zang et al., 2022). Sei mesi dopo l'ultimo richiamo il vaccino a mRNA 1273 (Spikevax, Moderna) continuava ad essere quello che induceva i titoli più elevati di anticorpi neutralizzanti; titoli simili, di poco inferiori, sono indotti dal vaccino BNT162b2 (Comirnaty, BioNTech - Pfizer) e Nuvovax (Novavax) (Naaber, 2021).

La risposta anticorpale indotta dai vaccini anti COVID-19 è inizialmente dovuta a IgM polifunzionali prodotte dai linfociti B1 che, al di fuori dai linfonodi, si trasformano in plasmacellule a vita breve. Progressivamente la risposta viene caratterizzata da IgM a bassa affinità per gli epitopi della proteina Spike, prodotte dai linfociti B2 della zona marginale che si trasformano in plasmacellule a vita breve. La successiva attivazione dei linfociti follicolari B2 porta alla produzione da parte di plasmacellule a vita lunga di IgM, IgG, IgA iper-mutate che, col passare di giorni acquisiscono un'affinità sempre maggiore (Arunachalam et al., 2021).

Dopo il richiamo, il titolo anticorpale indotto dalla prima vaccinazione aumenta durante le due o tre settimane successive per poi diminuire, dimezzandosi circa ogni 108 giorni con un

andamento bifasico, dapprima rapido e quindi molto più lento, rimanendo elevato per almeno 120 giorni dall'ultimo richiamo: in questo senso, la cinetica della risposta anticorpale indotta dai vaccini anti COVID-19 non si discosta dalla normale cinetica delle risposte anticorpali che si osservano dopo una vaccinazione (Naaber et al., 2021; Dolgin, 2021; Khoury et al., 2021, Azzolini et al., 2022). I titoli anticorpali più elevati e più persistenti si riscontrano nelle persone più giovani mentre declinano con l'avanzare dell'età, riducendosi più marcatamente nelle persone con più di settant'anni (Collier et al., 2021; Naaber et al., 2021)

Linfociti B di memoria. Dodici settimane dalla seconda dose di vaccino, linfociti B e plasmablasti iper-mutati sono ancora ben evidenti nei centri germinativi (Turner et al., 2021). La persistenza di linfociti B di memoria nei sei mesi che seguono l'ultimo richiamo e quella dei centri germinativi quando il titolo anticorpale decresce suggeriscono che la vaccinazione induca una prolungata generazione di linfociti B di memoria iper-mutati. In effetti, a sei mesi dal richiamo questi linfociti B di memoria possono venir rapidamente riattivati *in vitro* a produrre anticorpi iper-mutati che legano ad alta affinità la proteina Spike e che sono in grado di neutralizzare anche le varianti beta e delta del virus SARS-CoV-2 (Goel et al., 2021). Ancora nove mesi dall'ultimo richiamo la frequenza dei linfociti B di memoria, specifici per la proteina Spike continua ad essere almeno dieci volte più elevata di quella osservata immediatamente dopo il richiamo (Terrieri et al., 2022).

Circolando ripetutamente nei centri germinativi, questi linfociti B di memoria vanno incontro a cicli successivi di espansione, iper-mutazione e selezione che portano ad una continua espansione delle popolazioni di linfociti B di memoria che esprimono anticorpi di membrana con un'affinità sempre maggiore verso la proteina Spike (Lederer et al., 2021; Turner et al., 2021a; Piano Mortari et al., 2021; Grimsholm et al., 2020; Wang et al., 2021a; Gaebler et al., 2021). Le evidenze sull'instaurarsi di una persistente memoria immunitaria dei linfociti B dopo la vaccinazione non sono limitate ai dati di ristimolazione *in vitro*: nelle persone che si ammalano di COVID-19 dopo aver ricevuto il ciclo completo di vaccinazione si osserva una rapida riattivazione dei linfociti B di memoria, con la conseguente produzione di titoli elevati di anticorpi anti-Spike sia nel siero che nella saliva (Terrieri et al., 2022).

Disponiamo di pochi dati sulle risposte immunitarie indotte da vaccini a livello mucosale. È stato osservato che il vaccino BNT162b2 (Comirnaty, BioNTech – Pfizer) induce la presenza di anticorpi di classe IgG in saliva per la durata di tre mesi (Darwich et al., 2022). Nella saliva sono presenti a livelli bassi solo anticorpi IgA1, che a differenze di IgA2, vengono più facilmente degradati dalle proteasi. Questi dati spiegano la protezione (parziale ma significativa) contro l'infezione indotta dalla vaccinazione.

Valutazione della reazione immunitaria indotta dai vaccini. Nel loro insieme, i dati qui sopra riassunti indicano che la drammatica riduzione degli anticorpi anti-Spike che si osserva nel siero delle persone immunizzate corrisponde a ciò che avviene fisiologicamente dopo ogni immunizzazione (Auner et al., 2010; Dorner, Radbruch, 2007; Scott et al., 2021). I vaccini, però, inducono popolazioni espanse e persistenti di linfociti B, T CD4<sup>+</sup> e, un po' meno, di linfociti CD8<sup>+</sup> di memoria, che persistono per lunghi periodi e che possono venire riattivati rapidamente. Nel caso di un contagio dopo la vaccinazione, la riattivazione di queste popolazioni di linfociti di memoria svolge un ruolo essenziale nel limitare l'espansione virale e nel controllare efficacemente la malattia anche se questa reazione può non essere sufficiente a bloccare l'infezione (Matheus et al., 2021).

Il paragone diretto tra le risposte immunitarie indotte dai vaccini, offerto dal lavoro di Alessandro Sette, suggerisce che i vaccini a mRNA siano quelli in grado di innescare risposte

immunitarie superiori o uguali a quelle indotte dal vaccino proteico Nuvaxovid (Novavax) (Zang et al., 2022). Le risposte immunitarie provocate dal vaccino Ad26.COVS.2 (Johnson&Johnson), a vettore virale, appaiono inferiori ma relativamente stabili.

Il quadro che emerge sei-nove mesi dall'ultimo richiamo è connotato da una sostanziale diminuzione dei titoli degli anticorpi neutralizzanti il SARS-CoV-2, da riduzioni nettamente minori dei linfociti T CD4+ e CD8+ di memoria e dalla progressiva espansione di linfociti B di memoria.

Questi dati sembrano essere ben coerenti con il grado e la qualità della protezione osservati nelle persone immunizzate: persiste una protezione relativamente elevata verso i ricoveri dovuti a forme gravi di COVID-19 mentre svanisce la protezione verso il contagio. L'età della persona immunizzata svolge un'influenza spesso molto marcata sull'intensità e la persistenza delle risposte immunitarie indotte dai vaccini.

Un tema centrale dal punto di vista dell'utilizzazione dei vaccini è costituito da quello che viene definito "correlato di protezione", che consiste in uno o più indicatori della risposta immunitaria umorale o cellulare in grado di determinare il livello di protezione individuale o sociale. Al momento, per la COVID-19, non disponiamo di uno o più correlati di protezione su cui basare la campagna vaccinale o su cui stimare in modo affidabile il rischio individuale e confrontare la risposta immunitaria osservata in studi diversi (Abbasi, 2021). In generale, è stata osservata una correlazione fra livelli anticorpali, in particolare anticorpi neutralizzanti, e protezione contro il contagio, ma con grande variabilità individuale e, soprattutto, in una finestra temporale ristretta. Si tratta di un tema oggetto di ricerca in molti laboratori accademici e industriali (Azzolini et al., 2022; Azzolini et al., 2022b; Mazzoni et al., 2021; Mazzoni et al., 2022; Darwich et al., 2022; Openshaw, 2021), con importanti ricadute potenziali, come vedremo nel caso dei soggetti fragili.

## **6.La protezione offerta dai vaccini.**

La vaccinazione anti COVID 19 è certamente la campagna vaccinale più ampia che sia mai stata attivata. All'ampiezza del numero di persone vaccinate che, secondo Our World Data al momento in cui si scrive, corrisponde a circa 12 miliardi di dosi di vaccino somministrate – con almeno la prima dose - al 64,5% della popolazione mondiale, corrisponde una continua e ampia analisi della protezione offerta dai vaccini, analisi che offre risultati che cambiano radicalmente in seguito al continuo mutare del virus SARS-CoV-2. Un dato che sembra delinearsi con sempre maggiore chiarezza è la differenza tra l'evanescente protezione offerta verso il contagio e la più persistente protezione verso le forme gravi della malattia.

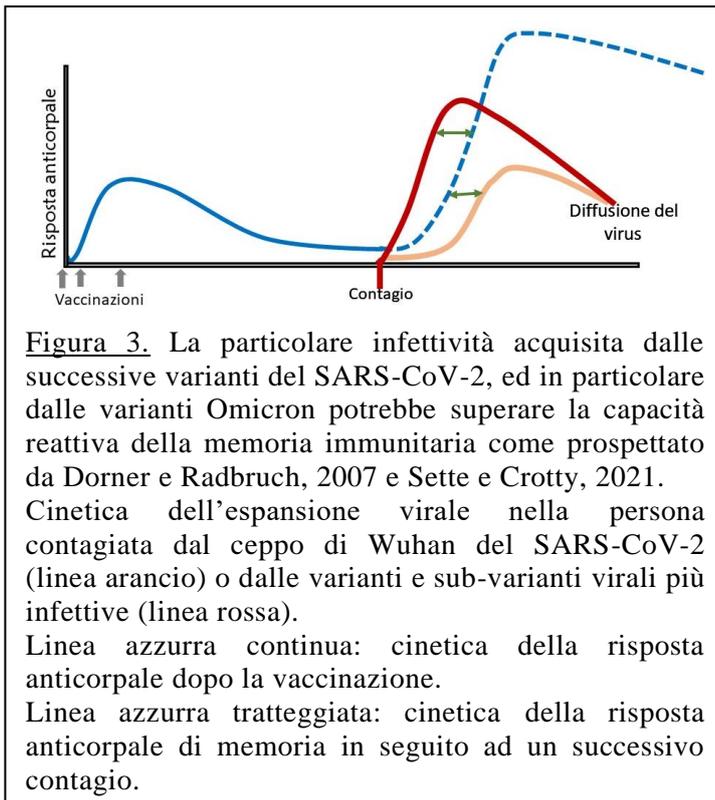
Protezione dal contagio. L'approvazione dei vari vaccini anti COVID-19 è basata su studi di Fase 3 e su studi randomizzati che valutano la protezione dopo un'osservazione a breve termine (Tabella 4 e 5). Quando il passare del tempo ha reso possibile valutare come la protezione vari dopo intervalli più prolungati, numerosi e diversi dati epidemiologici hanno messo in evidenza che, con una cinetica che cambia a seconda del tipo di vaccino, la protezione verso il contagio non persiste a lungo. In uno studio molto ampio, condotto su 780,225 veterani dell'esercito americano, nel primo mese la protezione verso il contagio offerta dai vaccini Ad26.COVS.2 (Johnson&Johnson), BNT162b2 (Comirnaty, BioNTech - Pfizer) e da mRNA-1273 (Spikevax, Moderna) era superiore all' 85%. Dopo sei-sette mesi, la protezione provvista dal vaccino Ad26.COVS.2 (Johnson&Johnson) si era progressivamente ridotta praticamente a nulla, quella del vaccino Comirnaty si aggirava ancora sul 40% e di poco più persistente appariva quella offerta dal vaccino mRNA-1273 (Spikevax, Moderna) che rimaneva intorno al 60% (Cohn, 2021).

Protezione dalla COVID-19 grave. Lo studio di Cohn et al. è interessante anche perché mette bene in evidenza che, benché l'aumento dei contagi determini anche un aumento del rischio di morire, a sei mesi dall'ultimo richiamo la protezione verso la morte dovuta a forme gravi di COVID-19 rimane significativamente elevata, anche se è marcatamente modulata dall'età della persona vaccinata. In questo studio, per le persone con meno di 65 anni, la protezione offerta dal vaccino Ad26.COV2 (Johnson&Johnson) era del 73%, quella del vaccino BNT162b2 (Comirnaty, BioNTec – Pfizer) del 81% e quella offerta dal vaccino mRNA-1273 (Spikevax, Moderna) dell'84%. Se invece le persone avevano superato i 65 anni, la protezione si riduceva al 52% con il vaccino Ad26.COV2, al 70% con il vaccino BNT162b2 e al 76% col vaccino mRNA-1273, valori di protezione che comunque rimangono sempre molto significativi (Cohn, 2021). Che la protezione verso la malattia grave persista più o meno su questi valori, modulati dal diverso prevalere delle diverse varianti del SARS-CoV-2, risulta anche dalla complessa meta-analisi di 13 744 studi portata a termine da Feikin (Feikin et al., 2022): questa analisi mette in evidenza che l'efficacia dei vaccini verso la COVID-19 grave rimane elevata, sebbene sia manifesta una diminuzione di circa il 20-30% dopo sei mesi dall'ultimo richiamo.

Anche i dati epidemiologici dimostrano che, di fronte a nuove espansioni dell'epidemia, le persone che sono state vaccinate hanno un bassissimo rischio di sviluppare forme gravi o mortali di COVID-19. Anche a livello di intere nazioni, a parità di diffusione della COVID-19, la mortalità può essere drammaticamente ridotta dalla vaccinazione, come sembra essere paradigmaticamente illustrato dal confronto tra Hong Kong e la Nuova Zelanda, Paesi dove, fino alla comparsa della variante Omicron, i casi di COVID-19 erano ridotti al minimo. A Marzo 2022, con l'arrivo dei nuovi picchi di pandemia, in Nuova Zelanda il numero dei decessi per COVID-19 è rimasto molto basso, mentre a Hong Kong questi sono saliti a circa 200 al giorno. La ragione fondamentale per questa differenza sembra essere la vaccinazione: in Nuova Zelanda il 100% dei residenti di età pari o superiore a 75 anni è completamente vaccinato mentre a Hong Kong è completamente vaccinato solo il 30% circa delle persone di età pari o superiore agli 80 anni (Science Staff, 2022).

E' interessante notare che già durante l'epidemia di quella che è conosciuta come "la peste di Atene" del 430 AC, Tucidide osservasse che alcune delle persone guarite non si ammalavano una seconda volta, cioè erano diventate resistenti al contagio, mentre altre si ammalavano, ma di una malattia non più mortale *"I guariti erano fiduciosi perché la pandemia non prendeva due volte la stessa persona, per lo meno non in modo da ucciderla"*. In uno studio recente sono stati analizzati i livelli anticorpali nella saliva delle persone vaccinate con vaccini a mRNA: nei tre mesi successivi alla vaccinazione sono presenti quantità significative di anticorpi di classe IgG, di origine ematica, mentre sono bassissimi i livelli di IgA1 e praticamente assenti le IgA2 (Darwich et al., 2022). Questi risultati mettono in evidenza che le IgG di origine ematica giocano un ruolo importante nella protezione delle mucose, ma suggeriscono anche che i vaccini attualmente in uso hanno una capacità limitata di attivare le difese specifiche delle mucose che dipendono essenzialmente dalle IgA2.

Titoli anticorpali più bassi, che sono non più in grado di bloccare il contagio, possono invece continuare ad avere un ruolo importante nel contrastare la malattia sia neutralizzando il virus in circolo sia collaborando con i meccanismi della reattività cellulare, guidando l'attività citotossica dei leucociti col meccanismo dell'Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity (ADCC) (Corbett KS et al., 2021; Naaber et al., 2021; Dolgin, 2021; Shrotri et al., 2021; Arunachalam et al., 2021).



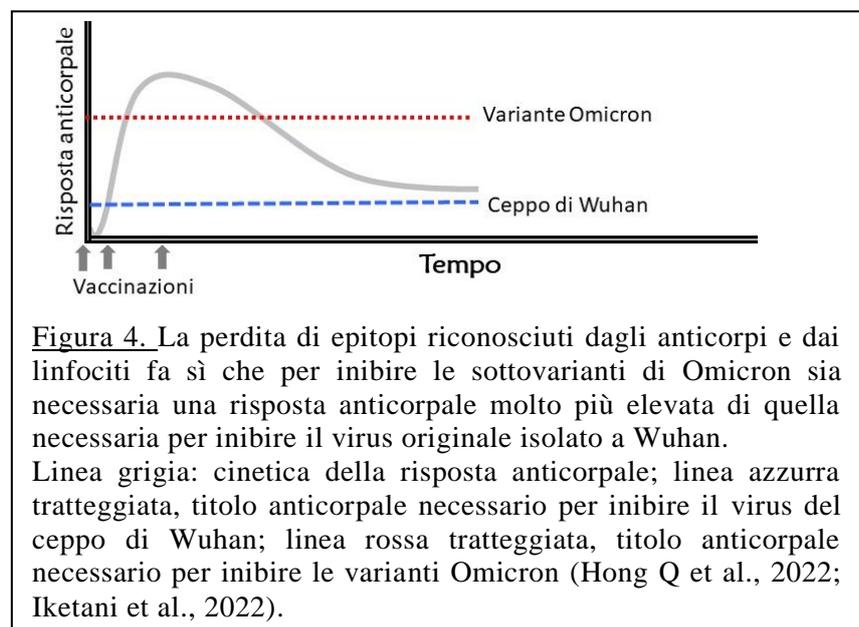
Richiami successivi, quarta dose, quinta dose...

Quanto della protezione limitata nel tempo che si osserva dopo la vaccinazione anti COVID-19, più che al tipo di malattia, è invece da ascrivere al tipo o alla piattaforma tecnologica dei nuovi vaccini COVID-19? I dati disponibili indicano che gli attuali vaccini anti COVID-19 ed in particolare i vaccini a mRNA e quelli proteici:

- a** inducono una forte risposta immunitaria che viene mantenuta, ma non esaltata dai richiami successivi;
- b** inducono una buona memoria immunitaria che dipende sia dai linfociti T e sia dai linfociti B di memoria;
- c** non sono in grado di indurre una marcata produzione di anticorpi secretori (IgA2 e IgM) a livello delle mucose.

È possibile che sia principalmente la scarsa capacità degli attuali vaccini di indurre anticorpi secretori a limitare nel tempo la protezione offerta verso un successivo contagio: di fronte ad una massiccia circolazione del virus e delle sue varianti più infettive, il contagio della persona immunizzata potrebbe aver luogo non appena il già basso titolo degli anticorpi secretori diminuisce fisiologicamente col passare del tempo. Inoltre, l'esaltata capacità infettiva progressivamente acquisita dalle varianti del SARS-CoV-2 e, in particolare, al momento attuale dalle varianti Omicron potrebbe permettere un'espansione virale così rapida da superare la capacità reattiva del sistema immunitario (Mallapaty, 2022a) (Fig. 3).

A sua volta, la riduzione della protezione verso la COVID-19 grave, che si osserva, benchè limitata, col passare del tempo potrebbe dipendere dalla combinazione tra la fisiologica diminuzione della risposta anticorpale che fa seguito ad ogni vaccinazione e l'insorgenza delle nuove varianti del SARS-CoV-2 che progressivamente sono diventate dominanti: di fatto, queste espongono un numero sempre più ridotto dei bersagli (tecnicamente epitopi) che possono essere riconosciuti dagli anticorpi indotti dal vaccino verso la forma di proteina Spike espressa dal ceppo originale di Wuhan. Una quota notevole di anticorpi e di cloni di linfociti T attivati dagli attuali vaccini che hanno come bersaglio la

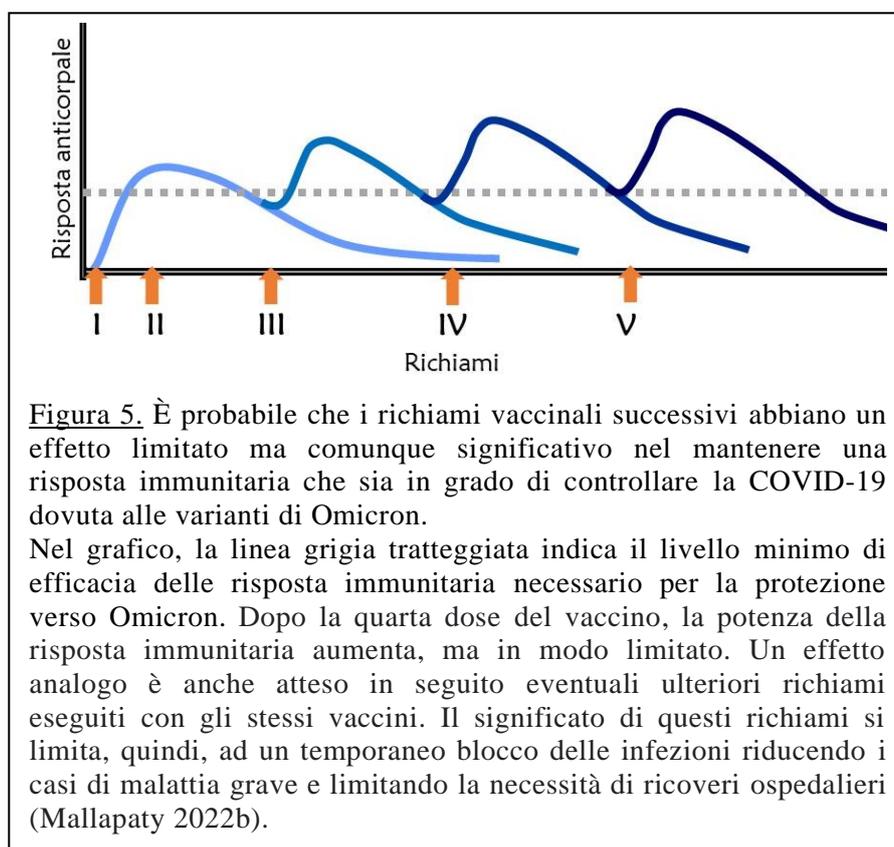


proteina Spike espressa dal ceppo di Wuhan, sono infatti diretti verso epitopi che non sono più presenti nelle proteine Spike espresse dalle varianti Omicron del SARS-CoV-2 (Fig. 4).

Per cercare di interpretare la situazione attuale e comprendere l'utilità ed i limiti dei richiami (quarta dose e successive), occorre tener presente che tutti i 28 vaccini oggi disponibili sono diretti verso il SARS-CoV-2 isolato a Wuhan a gennaio 2020, un virus che non circola più. Poiché le sub-varianti di Omicron sono diventate un virus diverso, per ottenere con gli attuali vaccini una protezione significativa verso queste sub-varianti è necessario mantenere estremamente alta la risposta immunitaria indotta. Infatti, solo una quota relativamente piccola degli anticorpi stimolati da questi vaccini riconosce le proteine Spike espresse dalle nuove varianti e sub-varianti. Quindi, uno dei problemi legati alla scelta della migliore strategia per le attuali vaccinazioni e richiami è proprio come mantenere una elevata risposta immunitaria se offrendo richiami successivi e ripetuti degli attuali vaccini o, invece, allestendo nuovi vaccini, specificamente diretti verso gli epitopi espressi dalla proteina Spike delle nuove varianti di Omicron attendendo quindi la loro disponibilità.

Pur riconoscendo i limiti delle ripetute vaccinazioni di richiamo con i vaccini attuali, in molte nazioni si ritiene che i richiami rappresentino una via che può temporaneamente svolgere un ruolo importante nel mantenere sufficientemente elevata la risposta immunitaria nel tempo (Fig. 5). I dati preliminari provenienti da Israele suggeriscono che un quarto richiamo offra solo un piccolo aumento della protezione verso il contagio ed un più significativo aumento della protezione verso la malattia grave e i decessi, specialmente nelle persone più fragili ed anziane (Regev-Yochay et al., 2022; Zhang Z et al., 2022; Magen et al., 2022). La scelta della strategia migliore è resa ancora più complessa dal fatto che le persone oltre i 75 anni sono quelle che sviluppano più frequentemente forme gravi di COVID-19 e che rispondono meglio ai vaccini ed ai richiami, sia quanto a intensità che a persistenza della risposta immunitaria. Se somministrare la quarta dose e gli eventuali richiami successivi è una decisione che dipende dall'età della persona, dal suo stile di vita e dal rischio ambientale - come discusso in dettaglio qui sotto a proposito dei soggetti fragili -, rispetto alla COVID-19, l'età e l'immunosenescenza che le è spesso direttamente collegata, tendono a rendere fragile ogni persona con più di 75 anni.

Il tema dei richiami successivi alla seconda (per età pediatrica) e alla terza dose è oggetto di discussione anche sul piano della sostenibilità e del rischio di quella situazione che viene denominata, in modo suggestivo, il "peccato



**Figura 5.** È probabile che i richiami vaccinali successivi abbiano un effetto limitato ma comunque significativo nel mantenere una risposta immunitaria che sia in grado di controllare la COVID-19 dovuta alle varianti di Omicron.

Nel grafico, la linea grigia tratteggiata indica il livello minimo di efficacia delle risposta immunitaria necessario per la protezione verso Omicron. Dopo la quarta dose del vaccino, la potenza della risposta immunitaria aumenta, ma in modo limitato. Un effetto analogo è anche atteso in seguito eventuali ulteriori richiami eseguiti con gli stessi vaccini. Il significato di questi richiami si limita, quindi, ad un temporaneo blocco delle infezioni riducendo i casi di malattia grave e limitando la necessità di ricoveri ospedalieri (Mallapaty 2022b).

originale antigenico”: si tratta del fatto che la vaccinazione con varianti di un antigene già conosciuto in precedenza dal sistema immunitario, induca preferenzialmente risposte contro l’antigene originale (Offit et al., 2022).

In ogni caso, l’obiettivo che è sempre associato ad ogni vaccinazione e ad ogni richiamo è quello di tendere a limitare la diffusione del virus e a cercare di interromperne la catena di trasmissione. Senza un buon accesso al vaccino e senza un’estesa copertura vaccinale in tutte le aree del mondo, il progressivo declino dell’efficacia della protezione indotta dai vaccini rappresenta un rischio sia per la salute individuale che per la salute pubblica (Piechotta e Harder, 2022).

## **7. Risposta immunitaria e protezione offerte dalla malattia naturale e dalla vaccinazione**

L’infezione da SARS-CoV-2 induce una risposta immunitaria che correla con la gravità dei sintomi e con la protezione acquisita nei confronti di una successiva esposizione al virus (Levi et al., 2021a, Levi et al., 2021b; Mazzoni et al., 2021; Mazzoni et al., 2022; Roltgen et al., 2022; Plumb et al., 2022). Come illustrato ad esempio dall’analisi recente del Center for Disease Control sulla variante Omicron (Plumb et al., 2022), i vaccini a mRNA inducono una protezione migliore rispetto a quella indotta dalla malattia naturale.

**Già nel Febbraio 2021, durante le prime fasi della campagna vaccinale era emerso che chi era guarito da una malattia sintomatica aveva una risposta iperergica verso la prima dose del vaccino (Levi et al., 2021a , Levi et al., 2021b; Mazzoni et al., 2021; Mazzoni et al., 2022; Frieman et al., 2021; Krammer et al., 2021). Queste osservazioni hanno avuto un impatto sulla politica vaccinale in molti Paesi, in Europa in particolare, portando ad un risparmio di dosi di vaccino durante una fase critica della campagna di vaccinazione (Frieman et al., 2021). Più in generale è emerso che la combinazione di malattia e vaccinazione è associata ad una risposta immunitaria più efficace per intensità e ampiezza, che protegge anche contro le varianti del virus, come Omicron (Roltgen et al., 2022; Plumb et al., 2022).**

### **Vaccinazione eterologa**

Pur in assenza di dati sulla risposta immunitaria e sulla protezione, in tutto il mondo si è proceduto ad eseguire vaccinazioni eterologhe, cioè a somministrare seconde e terze dosi di vaccini diversi da quelli usati per la prima e seconda immunizzazione (vaccinazione eterologa o *Mix and Match*). Vi sono pochi dati per un confronto sistematico della risposta e della protezione indotte da queste vaccinazioni eterologhe (Mahase 2021; Munro et al., 2021; Atmar et al., 2022). Tuttavia, in uno studio che ha confrontato 7 vaccini somministrati come richiamo dopo una prima vaccinazione con ChAdOx1 (Vaxevria, Oxford Inst. – AstraZeneca) o BNT162b2 (Comirnaty, BioNTech – Pfizer), tutti si sono rivelati efficaci nell’indurre una buona risposta, con livelli inferiori per il solo vaccino proteico Valnueva (Munro et al., 2021). Ancora, la combinazione di un vaccino adenovirale (ChAdOx1, Vaxevria, Oxford Inst. – AstraZeneca) seguito da un richiamo con un vaccino a mRNA (BNT162b2, Comirnaty BioNTech - Pfizer) ha mostrato l’induzione di una protezione migliore: come era stato previsto da molti immunologi, il vaccino adenovirale induceva risposte anticorpali inferiori, ma risposte dipendenti dai linfociti T più elevate (Pozzetto et al., 2021). Queste osservazioni sollevano il tema di un eventuale uso di combinazioni eterologhe per la protezione di soggetti fragili (vedi sotto).

## 9. La sfida dei soggetti fragili

I soggetti con una importante compromissione del sistema immunitario hanno un alto rischio di contrarre un'infezione COVID-19 in forma grave. In questa categoria ad alto rischio sono compresi pazienti oncologici e oncoematologici, pazienti con malattie autoimmuni trattati con farmaci immunosoppressivi, pazienti con insufficienza renale, pazienti trapiantati (Collier et al., 2021; Danthu et al., 2021; Ghione et al., 2021; Greenberger et al., 2021; Kennedy et al., 2021; Lafarge et al., 2022; Mahil et al., 2021; Thakkar et al., 2021; Agrati et al., 2022; Lupo-Stanghellini et al., 2022; Azzolini et al., 2022a). In questi pazienti, come nelle persone con oltre 75 anni d'età, è stata osservata una grande variabilità nella risposta alla vaccinazione in rapporto al tipo di malattia ed al tipo di terapia (Azzolini et al., 2022a) o semplicemente all'età

In particolare, si è osservato un difetto di risposta nei pazienti trattati con anti-CD20 che elimina i linfociti B e con alcune terapie immunosoppressive. È importante notare che è stata osservata una risposta difettiva anche nei pazienti vaccinati e guariti da una COVID-19 sintomatica, di cui abbiamo parlato nella Sezione 7. Infine, nei soggetti con oltre 75 anni d'età si osserva una grande variabilità della risposta alla vaccinazione, per cui almeno alcuni di essi sono da considerarsi fragili (Bates et al., 2021; Azzolini et al., 2022b; Collier et al., 2021; Arunachalam et al., 2021; Oberhardt et al., 2021).

Come discusso sopra, sulla base di questi dati e degli studi condotti in Israele su persone con oltre 60 anni d'età, nei soggetti fragili è stata raccomandata la somministrazione di una quarta dose (Regev-Yochay et al., 2022; Magen et al., 2022).

## 10. Vaccinazione e Long Covid

La patologia nota con il termine colloquiale di Long Covid o Post-Acute Sequelae of SARS-CoV-2 (PASC) è stata finora oggetto di un numero limitato di studi. Al di là del fatto che ridurre l'infezione, la durata e la gravità della malattia riduce anche il rischio di Long Covid, è logico porsi la domanda se, in caso di infezione in soggetti vaccinati o guariti, l'immunità acquisita con la vaccinazione o con la guarigione costituisca un fattore di protezione nei confronti del Long Covid. Un grande studio, condotto utilizzando la base dei dati dei veterani negli Stati Uniti ha riportato che una dose singola del vaccino Johnson&Johnson o due dosi di un vaccino a mRNA conferivano una protezione limitata, ancorché significativa, nei confronti di un Long Covid che si manifestava in seguito a reinfezione (*breakthrough infection*, BTI) (Al-Aly et al., 2022). Questo studio di grandi dimensioni soffre di limiti importanti, quali vaccinazioni sub-ottimali e un numero basso di soggetti di sesso femminile (meno del 10%). Uno studio longitudinale condotto in Italia su 1 233 membri del personale ospedaliero, ha messo in luce l'instaurarsi di una forte protezione contro il Long Covid mediata da vaccinazione con vaccino a mRNA (Azzolini et al., 2022c). Questo effetto era evidente nei soggetti che avevano ricevuto due o tre dosi di vaccino e dipendeva dal numero di dosi somministrate. Una analisi sul Long Covid condotta in Israele ha mostrato anche l'insorgere della protezione contro la BTI (Kuodi et al., 2022; Stein et al., 2022). La valutazione della protezione offerta dalla vaccinazione nei confronti del Long Covid dopo BTI pone importanti problemi metodologici correlati, ad esempio, all'impatto di varianti diverse del virus. Tuttavia, nonostante questi limiti e il numero ancora esiguo di studi, è ragionevole ritenere che la vaccinazione riduca il rischio di sviluppare Long Covid dopo BTI. La durata e l'impatto della protezione e il suo effettivo ruolo nei confronti di varianti future rimangono da definirsi.

## 11. Considerazioni conclusive

Lo sviluppo e l'utilizzazione dei vaccini contro la COVID-19 non hanno precedenti nella storia della medicina per quanto riguarda l'intensità e la condivisione della ricerca scientifica, la varietà delle tecnologie utilizzate e la rapidità nella messa a punto dei vaccini e nell'implementazione delle campagne vaccinali. E ancora, non vi sono precedenti in medicina a proposito della conduzione di una campagna vaccinale durante il pieno sviluppo di una pandemia.

Le campagne di vaccinazione globale contro il virus SARS-CoV-2 hanno fatto nascere molte domande sul funzionamento del sistema immunitario. La comprensione ancora insufficiente dei meccanismi della memoria immunologica fa sì che non siamo in grado di predire la durata e qualità della risposta immunitaria dopo la malattia e/o dopo la vaccinazione. Inoltre, il nesso fra immunità sistemica e risposta mucosale è ancora mal compreso e ciò limita lo sviluppo di vaccini più efficaci nel bloccare il contagio e la trasmissione del virus. È stato fatto un uso empirico dei protocolli più diversi di vaccinazione eterologa. I risultati positivi suggeriscono invece che ora potremmo sfruttare sistematicamente la complementarità tra vaccini diversi nell'indurre una forte risposta anticorpale e un'intensa attivazione dei linfociti T, particolarmente importante nella protezione dei soggetti fragili. Questi ultimi rappresentano una sfida significativa e ci si augura che una migliore identificazione dei correlati immunologici di protezione possa essere utilizzata per un'efficace vaccinazione dei soggetti più a rischio (Willicombe et al., 2022).

Infine, nei Paesi a basso reddito ed in Africa in particolare, la condivisione dei vaccini, la trasformazione dei vaccini in vaccinazione con l'angoscioso problema di superare l'ultimo miglio e la capacità di produrre localmente vaccini efficaci (*capacity building*) costituiscono la sfida attuale, sfida che inesorabilmente assume dimensioni e implicazioni globali (Rappuoli et al., 2019).

## 12. Executive Abstract

The rapid development of COVID-19 vaccines in less than one year represents an outstanding technological and scientific enterprise. The successful development of COVID-19 vaccines has been made possible by an unprecedented mobilization of resources at a national and international level. These include the Coalition for Epidemic Preparedness and Innovation (CEPI) at the international level, European Union, and, in the US Operation Warp Speed. At the time of writing this Report, at least 28 vaccines have been approved and used worldwide and over 12 billion doses have been administered. To address the challenge of low-income countries, WHO and other organizations such as the Global Alliance for Vaccines and Immunization (GAVI) have set up COVAX. In spite of this and other efforts, the divide between high-income and low-income countries in terms of vaccine usage remains dramatic with, for instance, only one out of 4 healthcare workers having access to a vaccine and only about 10% of the population in Africa having been vaccinated. Vaccines should be considered "public goods" and addressing the challenge of improving this state of affairs implies: the provision of vaccines; strengthening health care systems to run the "last mile"; capacity building and technology transfer to improve local development and production of vaccines.

Four vaccine platforms have been used. Nine vaccines make use of the SARS-CoV-2 virus inactivated using different approaches coupled with different adjuvants. The spike protein or fragments thereof provide the basis for 11 protein-based vaccines, which include adjuvants. Among nucleic acid-based approaches, one vaccine is based on naked DNA with a CpG adjuvant. Five vaccines are based on different strains of adenoviruses. These include the

Ad26.CoV2.S (Johnson and Johnson) and ChAdOx1 (Oxford Inst. - Astra Zeneca). The latter is the vaccine which has been one of the most widely used worldwide. Finally, two vaccines (BNT162b2 BioNTech - Pfizer and mRNA-1273, Moderna) are based on mRNA. Regulatory authorities (FDA in the USA and EMA in the EU) streamlined review procedures and this played a major role in the timing of approval of the first vaccines in less than a year without compromising safety and efficacy bars. In general, Phase 3 trials and real-world studies indicate that these vaccines are characterized by a remarkable safety profile and high efficacy, in particular against hospitalization and death. Adenoviruses and mRNA vaccines have been investigated for the immune responses elicited. Vaccination results in activation of innate immunity followed by T cell activation and antibody production. At the mucosal level, only anti-spike IgG and minute amounts of IgA1 were detected.

All vaccines in current use were designed based on the original Wuhan virus and its spike protein. A two-dose regimen followed by a booster has been shown to confer substantial protection against variants including Omicron. The COVID-19 symptomatic disease has been shown to induce immune responses and to confer protection against COVID-19, though most likely less than that offered by a three-dose vaccination regimen. Natural disease plus vaccination enhanced the level and breadth of the response, better encompassing variants.

Heterologous vaccination regimens have been widely used worldwide prompted by the phasing out of adeno-based vaccines because of the rare occurrence of deep vein thrombosis, by the lower activity of whole virus vaccines, and simply by vaccine availability. There is little information on the differential impact on immunity and protection of heterologous vaccinations. There is evidence that ChAdOx1 and BNT162b2 may be complementary by preferential activation of T and B cell responses, respectively.

COVID-19 represents a formidable challenge in patients with defective immune response. These include cancer patients (in particular onco-hematological patients), patients with autoimmune disorders, transplanted patients and other. In subjects >80-year old, great variability in the response to vaccination has been observed. Defective response to vaccination in fragile subjects is related to the type of treatment. Administration of a second booster dose is warranted in these subjects.

COVID-19 vaccines have had a tremendous impact on the pandemic. The deployment of vaccination campaigns with new vaccines in the very course of a pandemic has no precedent in Medicine. However, their very success raises a number of questions at the level of science and society.

### **13. Knowledge gaps and open questions**

- 1) There is a pressing need to better understand fundamental mechanisms of immunological memory. We are unable to predict the duration and protective function of memory which has to be assessed empirically with follow-up.
- 2) The induction and relevance of “trained innate immunity” remains to be defined.
- 3) There is little information as to the activation and relevance of mucosal immunity, of paramount importance in the perspective of blocking transmission.
- 4) Although protection is generally associated with levels of immunity, as assessed for instance by neutralizing antibody measurement, there is no immunological correlate of protection that can be used to assess individual risk.
- 5) The potential of rational combinations of different vaccines remains to be explored.
- 6) Protection of fragile immunosuppressed patients remains a challenge. Immunological correlates may help address this challenge at the level of individuals.

7) Strategies to deploy vaccines in low-income countries, run the “last mile” and foster capacity building and technology transfer need to be implemented and rigorously assessed.

## **Bibliografia**

Abbasi J, The flawed Science of Antibody testing, JAMA 2021, 326:1781.

Accad. Naz. Lincei 2018, Vaccines, [https://www.lincci.it/sites/default/files/documenti/Articles/Vaccini\\_report\\_21feb2018.pdf](https://www.lincci.it/sites/default/files/documenti/Articles/Vaccini_report_21feb2018.pdf).

Accad. Naz. Lincei, 2020a, Vaccini COVID-19: Rapporto Autunno 2020, <https://www.lincci.it/it/article/vaccini-covid-19-rapporto-autunno-2020>.

Accad. Naz. Lincei, 2020b, Equa distribuzione dei vaccini, <https://www.lincci.it/it/article/equa-distribuzione-dei-vaccini>.

Accad. Naz. Lincei e Società It. Pediatria 2022, La vaccinazione Covid-19 per i bambini tra 5 e 11 anni, <https://www.lincci.it/it/article/la-vaccinazione-covid-19-i-bambini-tra-5-e-11-anni>.

Agrati C et al., Covid-19 vaccination in fragile patients: current evidence and an harmonized transdisease trial. Front Immunol 2021, 12:704110.

Al-Aly Z et al., Long COVID after breakthrough SARS-CoV-2 infection. Nat Med 2022. doi: 10.1038/s41591-022-01840-0.

Arthur R, Moderna build mRNA manufacturing site in Kenya, BioPharma Rep, 2022, <https://www.biopharma-reporter.com/Article/2022/03/08/moderna-to-build-mrna-manufacturing-site-in-kenya>.

Arunachalam PS et al., Systems vaccinology of the BNT162b2 mRNA vaccine in humans, Nature 2021, 596:410.

Atmar RL et al., Homologous and heterologous Covid-19 booster vaccinations, N Engl J Med 2022, 386:1046.

Auner HW et al., The life span of short-lived plasma cells is partly determined by a block on activation of apoptotic caspases acting in combination with endoplasmic reticulum stress, Blood 2010, 116:3445.

Azzolini E et al., mRNA COVID-19 vaccine booster fosters B- and T-cell responses in immunocompromised patients. Life Sci Alliance 2022a, 5:e202201381, doi:10.26508/lsa.202201381

Azzolini E et al., Short-Term Adverse Events and Antibody Response to the BNT162b2 SARS-CoV-2 Vaccine in 4156 Health Care Professionals. Vaccines (Basel) 2022b, 10:439.

Azzolini E et al., Association between vaccination with BNT162b2 vaccine and Long COVID after breakthrough infections not requiring hospitalization in healthcare workers. JAMA 2022 in press.

Bates TA et al., Age-Dependent Neutralization of SARS-CoV-2 and P.1 Variant by Vaccine Immune Serum Samples. JAMA 2021, 326:868.

Bucci EM et al., Data discrepancies and substandard reporting of interim data of Sputnik V phase 3 trial. Lancet 2021, 397:1881.

Cavallo F et al., Vaccination for treatment and prevention of cancer in animal models, *Adv Immunol* 2006; 90:175.

Cohen J, 'A pretty big deal': U.S. makes COVID-19 technologies available for use in developing countries, *Science* 2022 <https://www.science.org/content/article/pretty-big-deal-u-s-makes-covid-19-technologies-available-use-developing-countries#.Yoetx-8pIYM.mailto>

Cohn BA et al., SARS-CoV-2 vaccine protection and deaths among US veterans during 2021, *Science* 2021, 375:331.

Collier DA et al., Age-related immune response heterogeneity to SARS-CoV-2 vaccine BNT162b2, *Nature* 2021, 596:417.

Corbett KS et al., Immune correlates of protection by mRNA-1273 vaccine against SARS-CoV-2 in nonhuman primates, *Science* 2021, 373:eabj0299. doi: 10.1126/science.abj0299.

COVAX, 2020. Working for global equitable access to COVID-19 vaccines, <https://www.who.int/initiatives/act-accelerator/covax>

Danthu C et al., Humoral response after SARS-CoV-2 mRNA vaccination in a cohort of hemodialysis patients and kidney transplant recipients, *J Am Soc Nephrol* 2021, 32:2153.

Darwich A et al., BNT162b2 vaccine induces antibody release in saliva: a possible role for mucosal viral protection? *EMBO Mol. Med* 2022, doi.org/10.15252/emmm.202115326.

Didierlaurent AM et al., Adjuvant system AS01: helping to overcome the challenges of modern vaccines. *Expert Rev Vaccines* 2017, 16:55.

Dobrovidova O, Russia's Sputnik V protects against severe COVID-19 from Delta variant, study shows, *Science* 2022, <https://www.sciencemag.org/news/2021/08/russia-s-sputnik-v-protects-against-severe-covid-19-delta-variant-study-shows>.

Dolgin E, The tangled history of mRNA vaccines, *Nature* 2021, 597:318.

Dorner T, Radbruch A, Antibodies and B Cell Memory in Viral Immunity, *Immunity* 2007, DOI 10.1016/j.immuni.2007.09.002.

Emanuel EJ et al., What are the obligations of pharmaceutical companies in a global health emergency? *Lancet* 2021, 398:1015.

Feikin DR et al., Duration of effectiveness of vaccines against SARS-CoV-2 infection and COVID-19 disease: results of a systematic review and meta-regression, *Lancet* 2022, [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(22\)00152-](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(22)00152-)

Forni G, Mantovani A, COVID-19 Commission of Accademia Nazionale dei Lincei, Rome. COVID-19 vaccines: where we stand and challenges ahead. *Cell Death Differ* 2021, 28:626.

Frieman M et al., SARS-CoV-2 vaccines for all but a single dose for COVID-19 survivors, *EBioMedicine* 2021, 68103401.

Gaebler C, Evolution of antibody immunity to SARS-CoV-2, *Nature* 2021, 591:639.

Geddes L, Maria Bottazzi: the scientist creating a vaccine for the world, GAVI org, <https://www.gavi.org/vaccineswork/iwd2022/maria-bottazzi-scientist-creating-vaccine-world>.

Geall AJ et al., Nonviral delivery of self-amplifying RNA vaccine, *Proc. Nat. Acad Sci* 2012, 109: 14604

Ghione P et al., Impaired humoral responses to COVID-19 vaccination in patients with lymphoma receiving B-cell-directed therapies, *Blood* 2021, 138:811.

Goel RR et al., mRNA vaccines induce durable immune memory to SARS-CoV-2 and variants of concern, *Science* 2021, 74: doi: 10.1126/science.abm0829.

Greenberger LM et al., Anti-spike antibody response to SARS-CoV-2 booster vaccination in patients with B cell-derived hematologic malignancies, *Cancer Cell* 2021, 39:1297.

Greinacher A et al., Thrombotic thrombocytopenia after ChAdOx1 nCov-19 vaccination, *N Engl J Med* 2021, 384: 2092.

Grimsholm O et al., The Interplay between CD27<sup>dull</sup> and CD27<sup>bright</sup> B Cells Ensures the Flexibility, Stability, and Resilience of Human B Cell Memory, *Cell Reports* 2020, 30:2963.

Habibzadeh F et al., COVID-19 infection among women in Iran exposed vs unexposed to children who received attenuated poliovirus used in oral polio vaccine, *JAMA Open Network* 2021, 4:e2135044.

Habibzadeh F et al., Use of oral polio vaccine and the incidence of COVID-19 in the world, *PLOS One* 2022, E 17(3):e0265562.

Hippisley-Cox J et al., Risk of thrombocytopenia and thromboembolism after covid-19 vaccination and SARS-CoV-2 positive testing: self-controlled case series study. *Brit Med J* 2021, 374:n1931. <http://dx.doi.org/10.1136/bmj.n1931>.

Hong Q et al., Molecular basis of receptor binding and antibody neutralization of Omicron, *Nature* 2022, 604:546.

Hunter DJ et al., Addressing Vaccine Inequity - Covid-19 Vaccines as a Global Public Good, *N Engl J Med* 2022, 386:1176.

Iketani A et al., Antibody evasion properties of SARS-CoV-2 Omicron sublineages, *Nature* 2022, 604:553.

Karikó K et al., Suppression of RNA Recognition by Toll-like Receptors: The Impact of Nucleoside Modification and the Evolutionary Origin of RNA, *Immunity* 2005, 23:165.

Kennedy NA et al., Infliximab is associated with attenuated immunogenicity to BNT162b2 and ChAdOx1 nCov-19 SARS-CoV-2 vaccines in patients with IBD, *Gut* 2021, 70:1884.

Khobragade A et al., Efficacy, safety, and immunogenicity of the DNA SARS-CoV-2, *Lancet* 2022, 399:1313.

Khoury DS et al., Neutralizing antibody levels are highly predictive of immune protection from symptomatic SARS-CoV-2 infection, *Nat Med* 2021, 27: 1205.

Krammer F et al., Antibody responses in seropositive persons after a single dose of SARS-CoV-2 mRNA vaccine, *N Engl J Med* 2021,384:1372.1374.

Kuodi P et al., Association between vaccination status and reported incidence of post-acute COVID-19 symptoms in Israel: a cross-sectional study of patients tested between March 2020 and November 2021. *medRxiv* 2022.01.05.22268800.

Lafarge A et al., Coronavirus disease 2019 in immunocompromised patients: a comprehensive review of coronavirus disease 2019 in hematopoietic stem cell recipients, *Curr Opin Crit Care* 2022, 28:83.

Lederer K et al., SARS-CoV-2 mRNA Vaccines Foster Potent Antigen-Specific Germinal Center Responses Associated with Neutralizing Antibody Generation, *Immunity* 2020, 53:1281.

Levi R et al., One dose of SARS-CoV-2 vaccine exponentially increases antibodies in individuals who have recovered from symptomatic COVID-19, *J Clin Invest* 2021a, 131:e149154

Levi R et al., The antibody response to SARS-CoV-2 infection persists over at least 8 months in symptomatic patients. *Commun Med (Lond)* 2021b, 1:32.

Li C et al., Mechanisms of innate and adaptive immunity to the Pfizer-BioNTech BNT162b2 vaccine, *Nature Immunol* 23, 543:2022.

Logunov DY et al., Safety and immunogenicity of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine in two formulations: two open, non-randomised phase 1/2 studies from Russia, *Lancet* 2020, 396:887.

Logunov DY, et al., Safety and efficacy of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine: an interim analysis of a randomised controlled phase 3 trial in Russia, *Lancet* 2021, 397:671.

Loyal L et al., Cross-reactive CD4+ T cells enhance SARS-CoV-2 immune responses upon infection and vaccination, *Science* 2021, 374:171.

Lupo-Stanghellini MT et al., mRNA-COVID19 vaccination can be considered safe and tolerable for frail patients, *Front Oncol* 2022, 12:855723.

Lurie N et al., Developing COVID-19 vaccines at pandemic speed, *N Engl J Med* 2020, 382:1969.

Mahase E, Covid-19: UK approves Valneva vaccine for adults under 50. *Brit Med J* 2022, 377:o985.

Mahil SK et al., The effect of methotrexate and targeted immunosuppression on humoral and cellular immune responses to the COVID-19 vaccine BNT162b2: a cohort study, *Lancet Rheumatol* 2021, 3:e627-e637.

Magen O et al., Fourth Dose of BNT162b2 mRNA Covid-19 Vaccine in a Nationwide Setting. *New Engl. J. Med.* 2022, 386: 1603

Makris M et al., Vaccine-induced Immune thrombocytopenia and thrombosis (VITT). *Res Pract Thromb Haemost* 2021, 5: e12529.

Mallapaty S et al., R. <https://euractiv.com/12/1/2022>; How COVID vaccines shaped 2021 in eight powerful charts. *Nature* 2021, 600:580.

Mallapaty S, Analysis reveals how much faster Omicron spreads and evades the immune system compared with the previous variant, *Nature* 2022a, doi: <https://doi.org/10.1038/d41586-022-00632-3>.

Mallapaty S, Fourth dose of COVID vaccine offers only slight boost against Omicron infection, *Nature* 2022b, doi: <https://doi.org/10.1038/d41586-022-00486-9>.

Mantovani A, Netea MG, Trained Innate Immunity, epigenetics, and Covid-19. *N Engl J Med.* 2020, 383:1078.

Mantovani A, To avoid more COVID-19 variants, we must vaccinate Africa, *EURACTIV* 2022, <https://euractiv.com/12/1/2022>.

Mateus J et al., Low-dose mRNA-1273 COVID-19 vaccine generates durable memory enhanced by cross-reactive T cells,. *Science* 2021, 374:420.

Mazzoni A et al., First-dose mRNA vaccination is sufficient to reactivate immunological memory to SARS-CoV-2 in subjects who have recovered from COVID-19, *J Clin Invest* 2021, 131:e149150. <https://doi.org/10.1172/JCI149150>.

Mazzoni A et al., SARS-CoV-2 infection and vaccination trigger long-lived B and CD4+ T lymphocytes with implications for booster strategies, *J Clin Invest* 2022, 132:e157990. <https://doi.org/10.1172/JCI157990>.

Mendonca SA et al., Adenoviral vector vaccine platforms in the SARS-CoV-2 pandemic, *Vaccines* 2021, 6:97.

Msomi N et al., Africa: tackle HIV and COVID-19 together, *Nature*, 2021, 600:33.

Munro APS et al., Safety and immunogenicity of seven COVID-19 vaccines as a third dose (booster) following two doses of ChAdOx1 nCov-19 or BNT162b2 in the UK (COV-BOOST): a blinded, multicentre, randomised, controlled, phase 2 trial. *Lancet* 2021, 398:2258.

Mutombo PN et al., COVID-19 vaccine hesitancy in Africa: a call to action. *Lancet*, 2022, 10: e320

Naaber P et al., Dynamics of antibody response to BNT162B2 vaccine after six months: A longitudinal prospective study, *The Lancet Reg Health* 2021, <https://doi.org/10.1016/j.lanepe.2021.100208>.

Nature editorial, Africa is bringing vaccine manufacturing home, *Nature* 2022, 602:184.

Novel 2019 coronavirus genome, 2019, <https://virological.org/t/novel-2019-coronavirus-genome/319>.

Oberhardt V et al., Rapid and stable mobilization of CD8+ T cells by SARS-CoV-2 mRNA vaccine, *Nature* 2021, 597:268.

Offit R et al., Covid-19 boosters-Where from here, *New Engl. J. Med.* 2022, 386: 1662

Openshaw PJM, Using correlates to accelerate vaccinology. *Science* 2022, 375:22.

Our World In Data, 2022, <https://ourworldindata.org/covid-vaccinations>.

Pavord S et al., Clinical Features of Vaccine-Induced Immune Thrombocytopenia and Thrombosis. *N Engl J Med* 2021, doi: 10.1056/NEJMoa2109908 2021.

Piano Mortari E et al., Highly Specific Memory B Cells Generation after the 2nd Dose of BNT162b2 Vaccine Compensate for the Decline of Serum Antibodies and Absence of Mucosal IgA, *Cells* 2021, 10:2541.

Piechotta V, Harder T, Waning of COVID-19 vaccine effectiveness: individual and public health risk, *Lancet* 20202, 399:887.

Plumb JD et al., Effectiveness of COVID-19 mRNA Vaccination in Preventing COVID-19–Associated Hospitalization Among Adults with Previous SARS-CoV-2 Infection — United States, June 2021–February 2022, *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2022, 71:549.

Pottegård A et al., Arterial events, venous thromboembolism, thrombocytopenia, and bleeding after vaccination with Oxford-AstraZeneca ChAdOx1-S in Denmark and Norway: population based cohort study. *Brit Med J* 2021, 373:n1114 <http://dx.doi.org/10.1136/bmj.n1114>.

Pozzetto B et al., Immunogenicity and efficacy of heterologous ChAdOx1-BNT162b2 vaccination. *Nature* 2021, 600:701.

Rappuoli R et al., Vaccines: An achievement of civilization, a human right, our health insurance for the future. *J Exp Med* 2019, 216:7.

Rappuoli et al., Vaccinology ion the post-COVID era. *Proc. Natl. Acad. Sci* 2021, <https://doi.org/10.1073/pnas.2020368118>.

Rearte A et al., Effectiveness of rAd26-rAd5, ChAdOx1 nCoV-19, and BBIBP-CorV vaccines for risk of infection with SARS-CoV-2 and death due to COVID-19 in people older than 60 years in Argentina: a test-negative, case-control, and retrospective longitudinal study. *Lancet* 2022, 399:1254.

Regev-Yochay G et al., Efficacy of a Fourth Dose of Covid-19 mRNA Vaccine against Omicron, *N Engl J Med* 2022, 386:1377.

Roltgen K et al., Immune imprinting, breadth of variant recognition, and germinal center response in human SARS-CoV-2 infection and vaccination, *Cell* 2022, 185:1025.

Schultz NH et al., Thrombosis and Thrombocytopenia after ChAdOx1 nCoV-19 Vaccination, *N Engl J Med* 2021, 384:2124.

Science staff, Death disparity underscores power of vaccines, *Science* 2022, 375:1073.

Scott J et al., Covid-19 vaccination: evidence of waning immunity is overstated, *Brit Med J* 2021, 374:n2320.

Scully M et al., Pathologic antibodies to platelet factor 4 after ChAdOx1 nCoV-19 vaccination. *N Engl J Med* 2021; 384:2202.

Sette A, Crotty S, Adaptive immunity to SARS-CoV-2 and COVID-19, *Cell* 202, 184:861.

Shrotri M et al., Spike-antibody waning after second dose of BNT162b2 or ChAdOx1. *Lancet*. 2021, 398:385.

Smith G et al., Production of Human Beta Interferon in Insect Cells Infected with a Baculovirus Expression Vector, *Mol Cell Biol* 1983, 3:2156.

Stanley DA et al., Chimpanzee adenovirus vaccine generates acute and durable protective immunity against ebolavirus challenge, *Nat Med* 2014, 20:1126.

Stein M. et al. The Burden of COVID-19 in Childr,en and Its Prevention by Vaccination: A Joint Statement of the Israeli Pediatric Association and the Israeli Society for Pediatric Infectious Diseases. *Vaccines* 2022, 10(1), 81.

Tagliabue A, Forni G, COVID-19: Who will produce the vaccine? *Accad Naz Lincei* 2020, <https://www.lincci.it/it/article/covid-19-who-will-produce-vaccine>.

Tarke A et al., SARS-CoV-2 vaccination induces immunological T cell memory able to crossrecognize variants from Alpha to Omicron, *Cell* 2022, 184:861.

Tayar E et al., Effectiveness of influenza vaccination against SARS-CoV-2 infection among healthcare workers in Qatar | medRxiv 2022. <https://doi.org/10.1101/2022.05.09.22274802>.

Terrieri S et al., Persistent B cell memory after SARS-CoV-2 vaccination is functional during breakthrough infections, *Cell Host & Microbe* 2022, 30:400.

Thakkar A et al., Patterns of seroconversion for SARS-CoV2-IgG in patients with malignant disease and association with anticancer therapy, *Nat Cancer* 2021, 2:392.

Topol EJ, Messenger RNA vaccines against SARS-CoV-2. *Cell* 2021, 184:1401.

Turner JS et al., SARS-CoV-2 infection induces long-lived bone marrow plasma cells in humans, v n humans. *Nature* 2021a, 595:421.

Turner JS et al., SARS-CoV-2 mRNA vaccines induce persistent human germinal centre responses, *Nature* 2021b, 596:109.

Wang K et al., Longitudinal dynamics of the neutralizing antibody response to SARS-CoV-2 infection. *Clin. Infect. Dis.* 2020, 579:270.

Willicombe M et al., Should we be clinically assessing antibody responses to covid vaccines in immunocompromised people? *Brit Med J* 2022, 377:o966.

Zarocostas J, Mixed response to COVID-19 intellectual property waiver, *Lancet* 2022, 399:1292.

Zhang Z et al., Humoral and cellular immune memory to four COVID-19 vaccines, *BioRxiv* 2022, doi:<https://doi.org/10.1101/2022.03.18.484953>

Zhu N et al., Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, *N Engl J Med* 2020, 382:727.