

Co je špatně s acelulární pertusovou (aP) vakcínou?

P.Šebo

Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i. Praha

sebo@biomed.cas.cz

Dávivý kašel je respirační onemocnění
a parenterálně podávaná acelulární pertusová
(aP) vakcína nenavodí adekvátní slizniční imunitu

Celobuněčná (wP) vakcína si v tomhle vedla lépe a
dnes začínáme chápat proč...

Bordetella pertussis

OPRAVDOVÝ lidský patogen
Šampion imunosuprese!

Katarální fáze je bez horečky!!!

Následná pneumonie může kojence zabít velmi rychle...

Dávivý kašel je nejhůře zvládnuté infekční onemocnění, proti kterému se systematicky očkuje všude na světě ...

30–50 millionů případů za rok

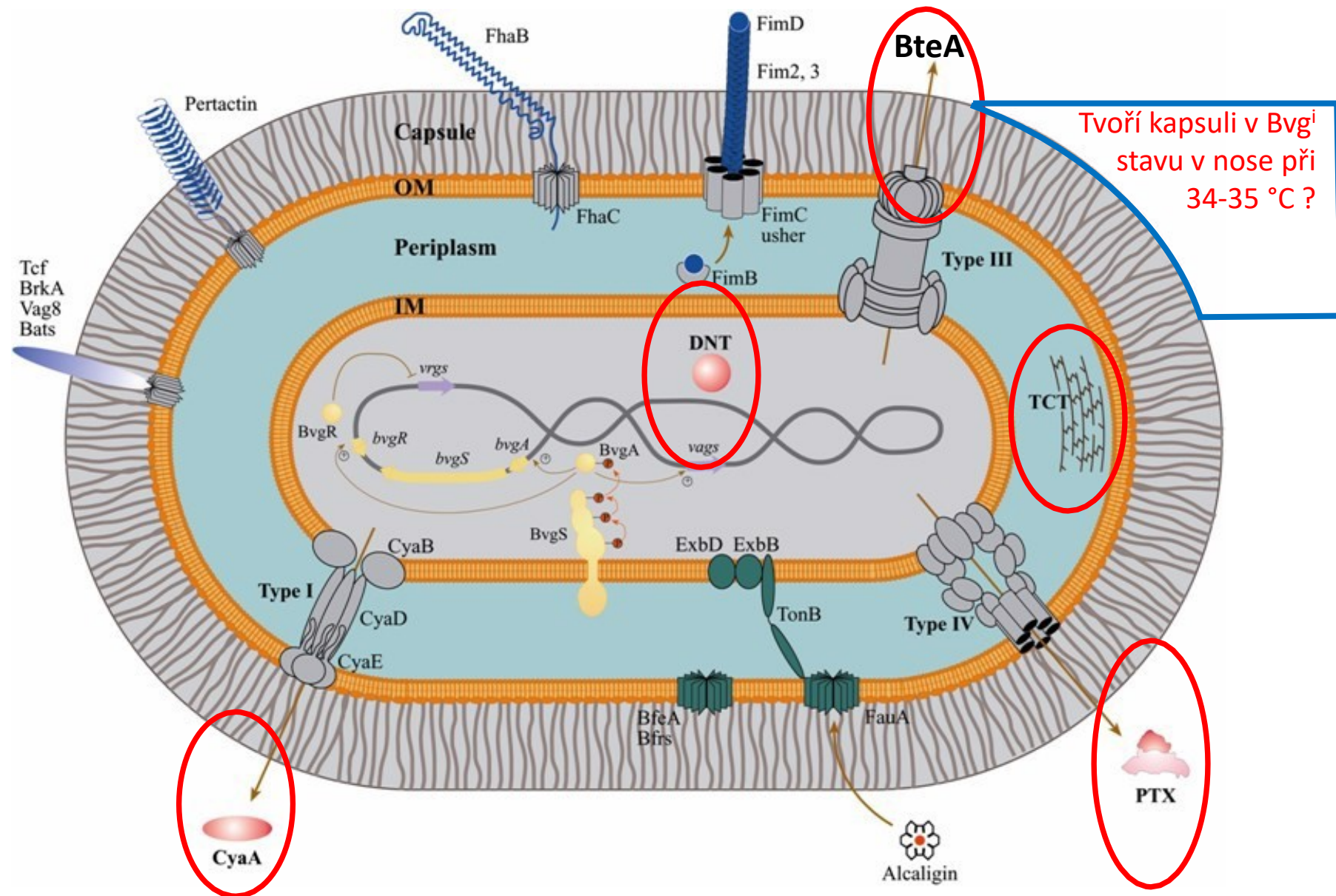
200 – 300 tis. úmrtí ročně

V USA již cirkulují pouze kmeny neprodukující PRN = jediný opsonizující antigen aP = infekce se volně šíří...

B. pertussis je vybavená mnoha paralelními a redundantními faktory virulence

(cytotoxiny, imunomodulátory a adhesiny)

PRODUKUJE NEJMÉNĚ 4 IMMUNOSUBVERSIVNÍ TOXINY...



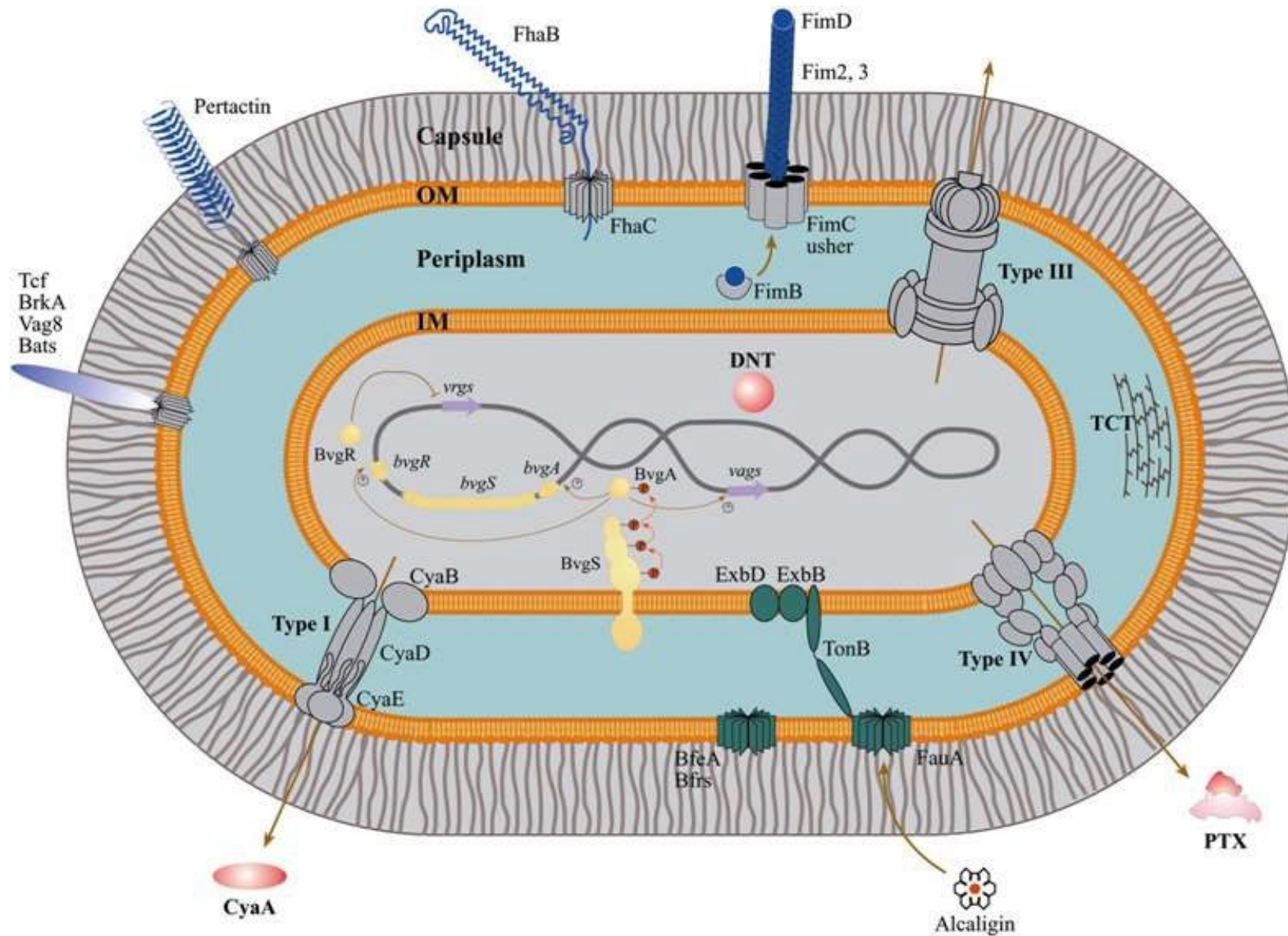
Pertusové Vakcíny

V roce 1942 byl a v USA zavedena první DTP vakcína

1957 zavedená česká celobuněčná Alditepera (ÚSOL)

- D – diphteria, T – tetanus, P – pertussis (suspenze inaktivovaných bakterií)
- Celosvětově problém s konsistencí šarží a obsahem endotoxinu
- vedlejší účinky (bolest, nechutenství, neutišitelný pláč, zduření tkáně v místě vpichu, horečka, febrilní stavy)
- Neprokázaná tvrzení o neurologickém poškození v důsledku očkování – panika v UK, SRN, Švédsku v 70. letech

Ve správně vyrobené celobuněčné pertusové vakcíně (**wP**) ty ochranné antigeny byly skoro všechny (desítky protektivních opsonizačních antigenů + LOS)...



Ani velmi neúčinnější celobuněčná pertusová vakcína (wP) neposkytuje celoživotní ochranu

chrání jen 15 – 25 let

I době wP patogen cirkuloval, ale mnohem méně, takže wP-imunizovaní nebyli „přeočkováváni“ pravidelnou infekcí nosohltanu

Pertusové Vakcíny

V roce 1942 byl a v USA zavedena první DTP vakcína

1957 zavedená česká Alditepera (ÚSOL)

- D – diphteria, T – tetanus, P – pertussis (suspenze inaktivovaných bakterií)
- Celosvětově problém s konsistencí šarží a obsahem endotoxinu = vedlejší účinky (bolest, nechutenství, neutišitelný pláč, zduření tkáně v místě vpichu, horečka, febrilní stavy)
- Neurologické poškození???

DTaP (acelulární pertusová složka)

zkoušené ve Švédsku a Německu, zavedena v Austrálii 1998, v USA v roce 1999

- PT toxoid, adhesiny FHA and PRN + případně Fim2/3 (Sanofi)
- Chrání proti těžkým průběhům a kritické pneumonii kojenců, nikoliv proti infekci a přenosu onemocnění...
- **Selektuje kmeny patogena neexprimující antigeny DTaP vakcíny – PRN-**
- **Nyní v ČR již jen Hexacima obsahující pouze PT + FHA... do 10-ti let na tom můžeme být dost špatně...**

Hexacima

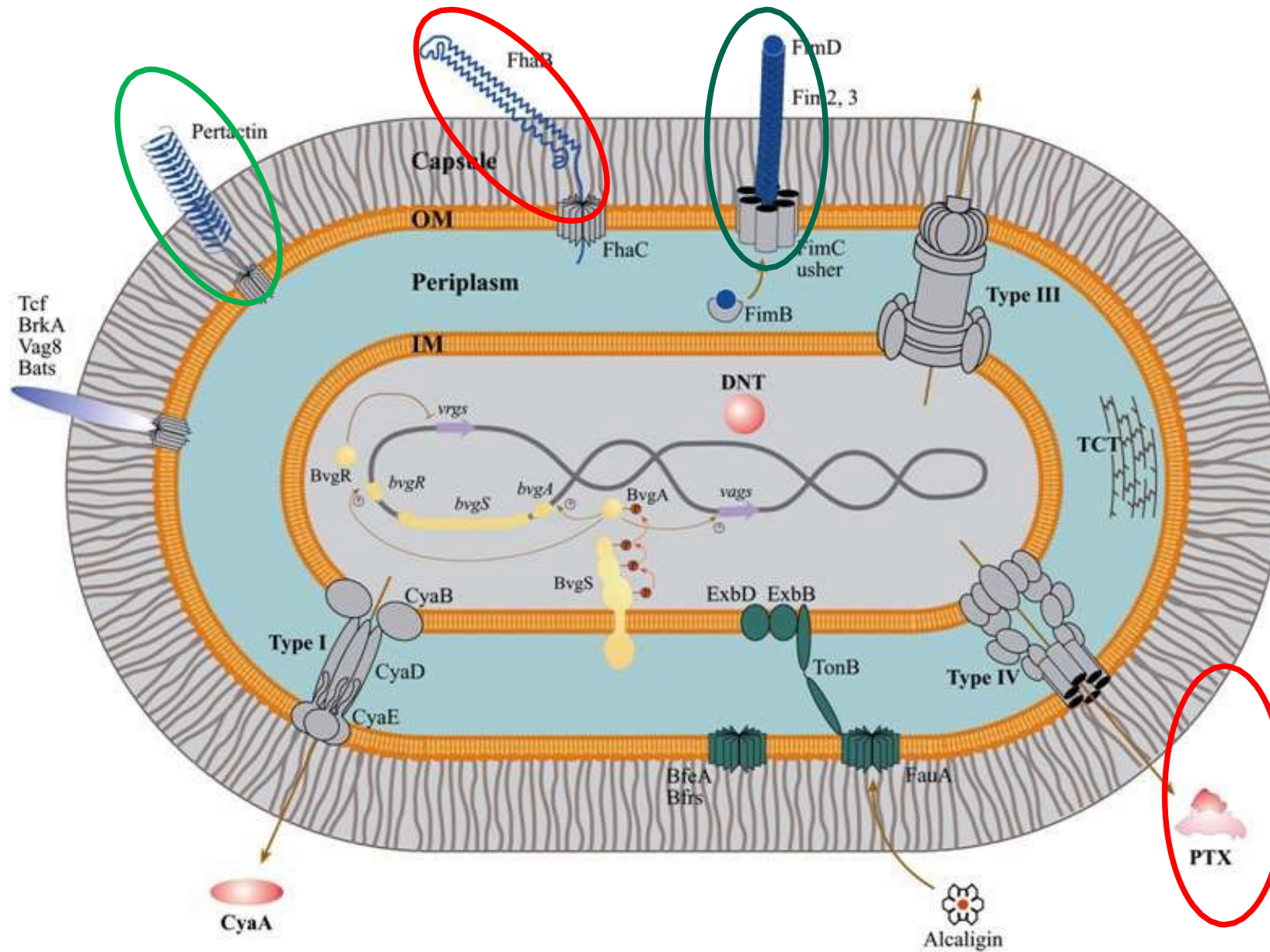
PT + FHA

Infanrix

PT + FHA + PRN

Vaxelis

PT + FHA + PRN + FIM2/3

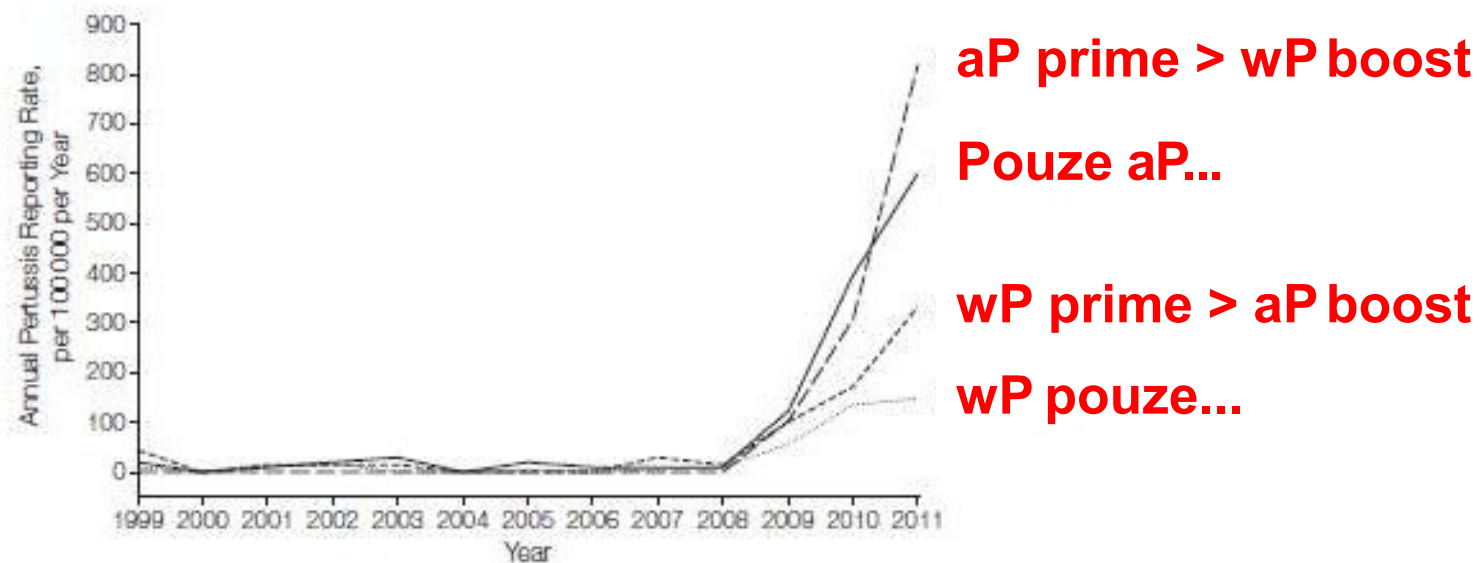


V roce 2011 dosáhla incidence pertuse v Austrálii 125/100,000 opravdová EPIDEMIE ve vysoce proočkované populaci

Sheridan *et al.* (2012) JAMA 308, No. 5 – Australia outbreak 2011

Reduced Risk of Pertussis Among Persons Ever Vaccinated With Whole Cell Pertussis Vaccine Compared to Recipients of Acellular Pertussis Vaccines

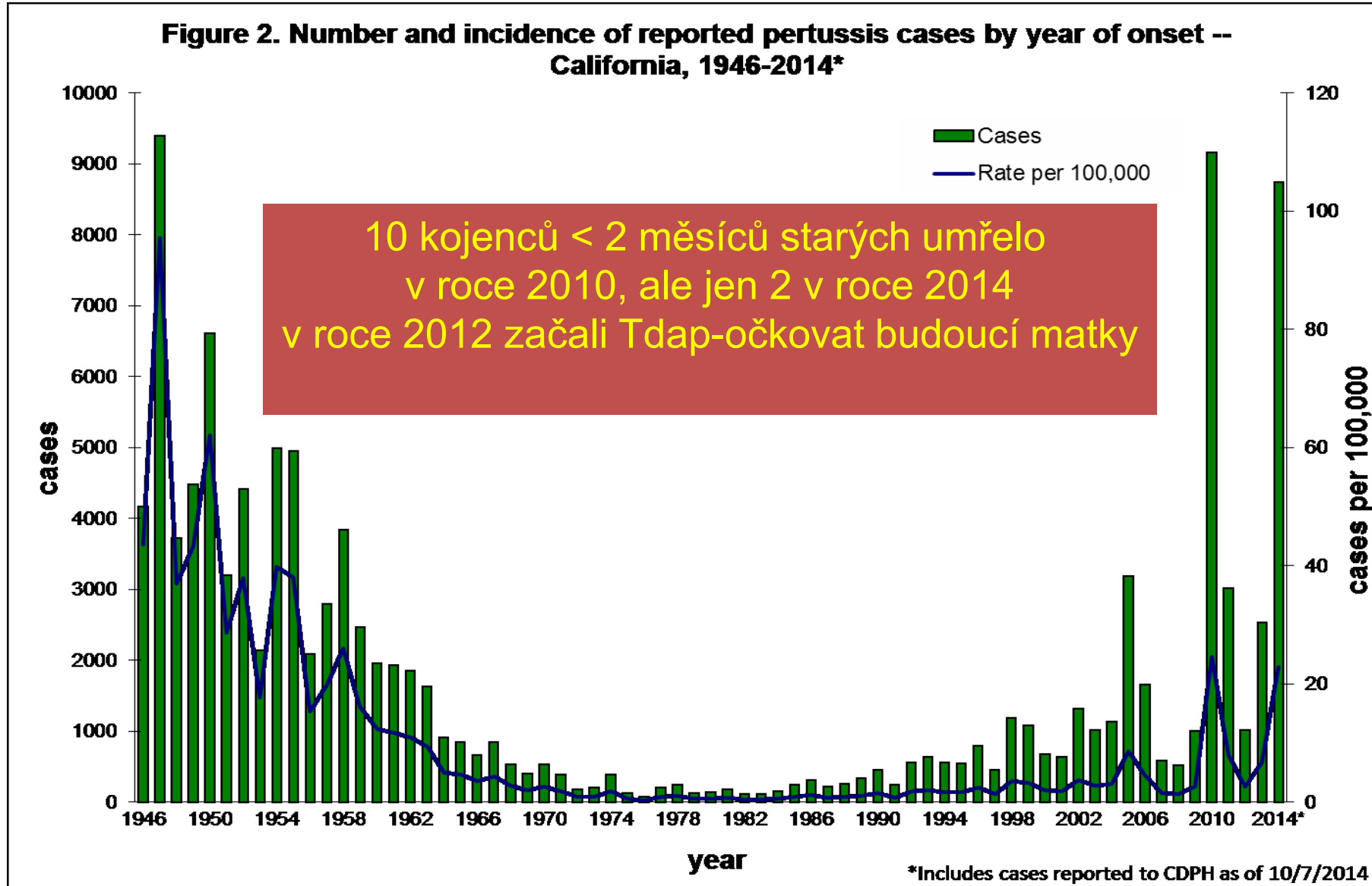
Figure. Pertussis Reporting Rates Between 1999 and 2011 by Primary Course of Pertussis Vaccination for Children Born in 1998



DTaP indicates diphtheria-tetanus-acellular pertussis; DTwP, diphtheria-tetanus-whole cell pertussis.

Kalifornie 2010 a 2014

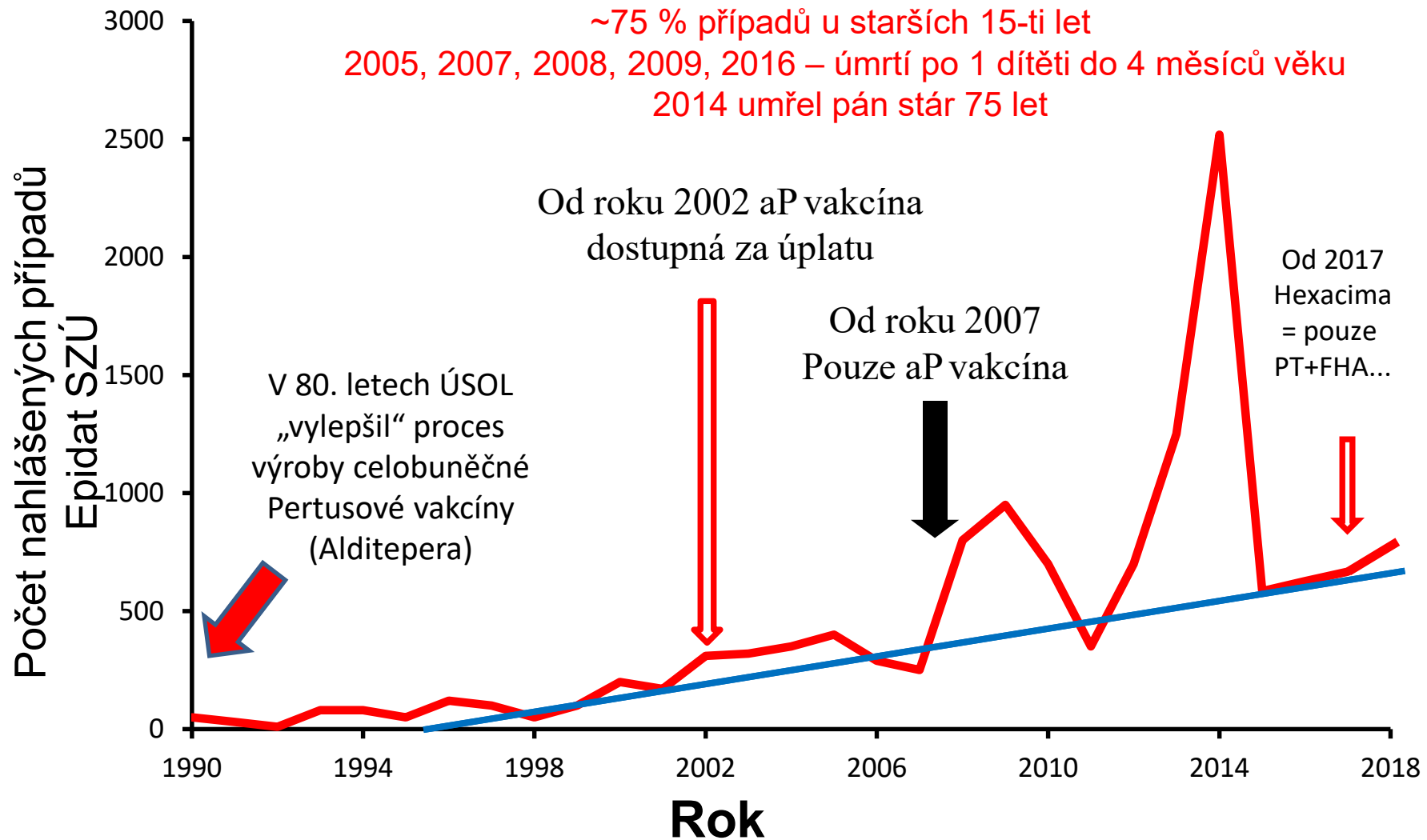
(všichni se vzbudíme, když je problém v USA...)



Díky “demokracii”
a
acelulární vakcíně
je
pertuse zpátky i v ČR...

Všichni máme opět problém...

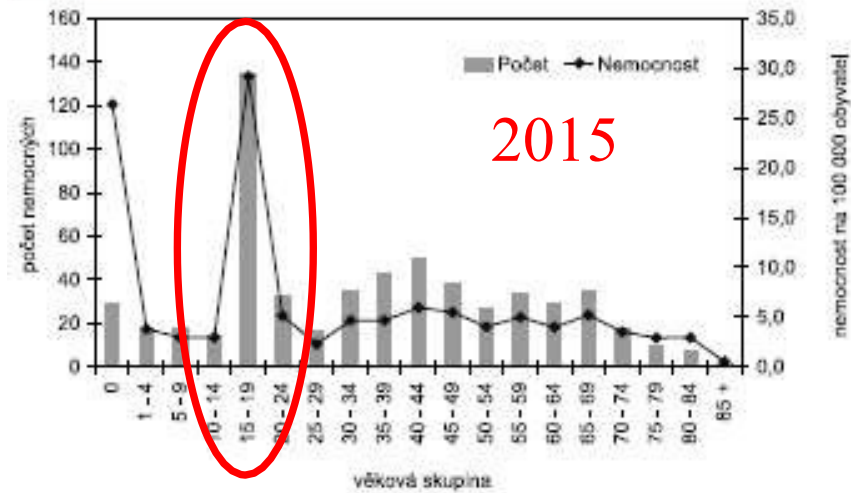
Vývoj incidence klinicky diagnostikované pertuse v ČR v letech 1990-2018
2521 případů v roce 2014 (jako v roce 1961...)



Stav v ČR v letech 2015 až 2018 2016

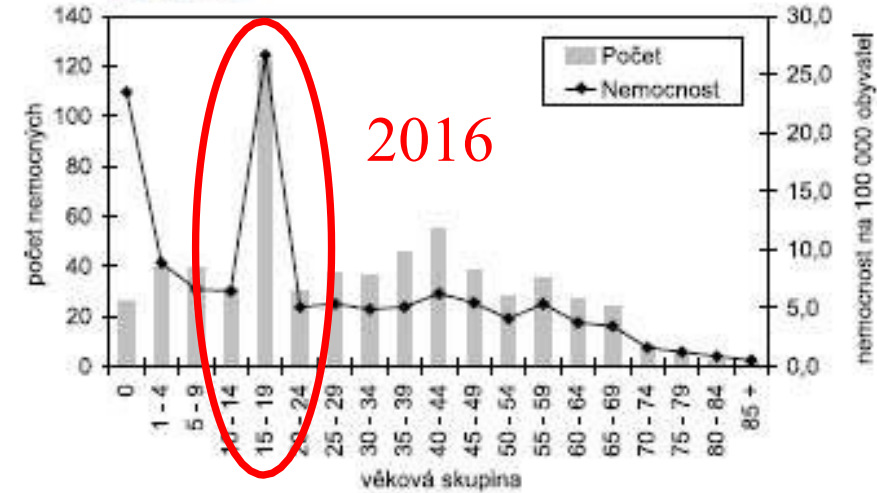
Syndrom dávivého kašle. Pertuse a parapertuse v České republice v roce 2016 - SZÚ
Kateřina Fabiánová, Jana Zavadilová, Helena Šebestová, Martin Gašpárek, Bohumír Kríž

Graf 2: PERTUSE, ČR, 2015, počet případů a nemocnost na 100 000 obyvatel, podle věku



585 osob s pertusí, z toho
314 plně očkováno
83 případů parapertuse

Graf 2: PERTUSE, ČR, 2016, počet případů a nemocnost na 100 000 obyvatel, podle věku



627 osob s pertusí, z toho
407 plně očkováno
58 případů parapertuse

2017 – 667 hlášených případů
2018 – 752 hlášených případů – 49 do 1 roku věku
Co nastane letos na podzim a v roce 2020?

<http://www.szu.cz/tema/prevence/pertuse>

Rychlý pokles ochranné imunity po aP vakcíně

Witt et al. (2012) Clin. Infect. Dis. 54:1730-1752

Unexpectedly Limited Durability of Immunity Following Acellular Pertussis Vaccination in Preadolescents in a North American Outbreak

135 000 pacientů s potvrzeným vakcinačním statusem – 171 potvrzených případů
Významný nárůst u 8 – 12-tiletých

Table 1. Attack Rates Among Vaccinated Patients and Among Undervaccinated and Unvaccinated Patients

Age Group (Years)	Attack Rate, Cases/100000 Person-Years		P ^a
	Vaccinated Persons	Undervaccinated and Unvaccinated Persons	
2–7	359	606	.57
8–12	2453	3211	.43
13–18	452	2189	.009
2–18	1011	2073	.01

Abbreviation: PCR, polymerase chain reaction.

^a By the t test.

Table 2. Vaccine Effectiveness, by Age

Age, Years	PPV, %	PCV, %	Effectiveness, % (95% CI)
2–7	91	86	41 (21–54)
8–12	89	86	24 (0–40)
13–18	89	62	79 (73–84)
2–18	90	81	51 (44–58)

Abbreviations: CI, confidence interval; PCV, proportion of cases fully vaccinated; PPV, proportion of the population fully vaccinated.

wP-očkování jsou mnohem déle chránění než aP-očkování
po 6 dávkách aP je ochrana kratší než po 5-ti dávkách aP...

Reduced Risk of Pertussis Among Persons Ever Vaccinated With Whole Cell Pertussis Vaccine Compared to Recipients of Acellular Pertussis Vaccines. Witt et al. (2013) Whole Cell Pertussis Vaccine Superiority • Clin. Inf. Dis. 56: 1248-1254

Kalifornie 2010 - 263 496 jedinců 8–20 let, 904 diagnostikovaných s pertusí

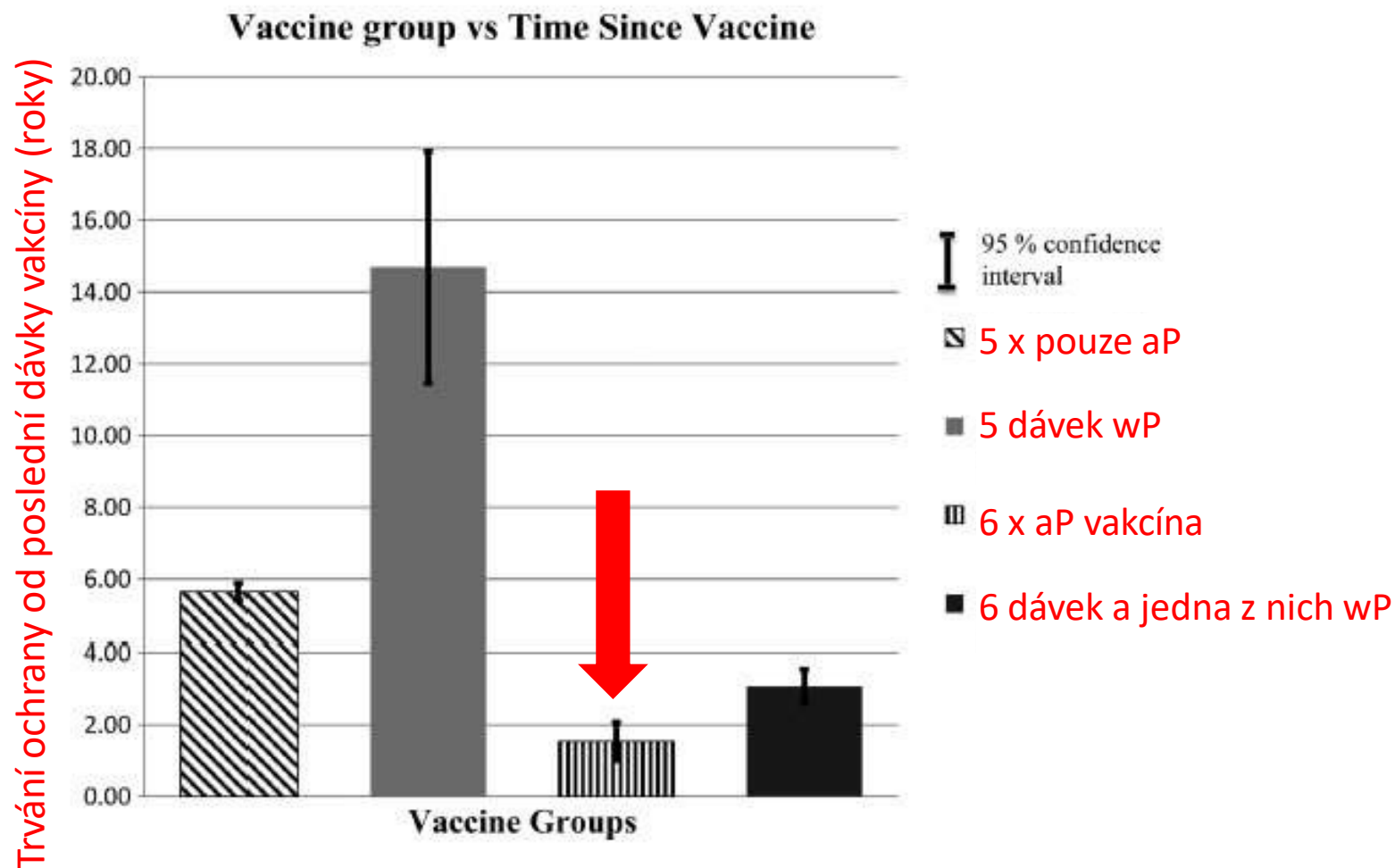


Figure 1. Mean time since last dose of vaccine among cases, with 95% confidence interval shown.

24. září 2019, NIAID NIH, Washington, DC

• **Overcoming Waning Immunity in Pertussis Vaccines**

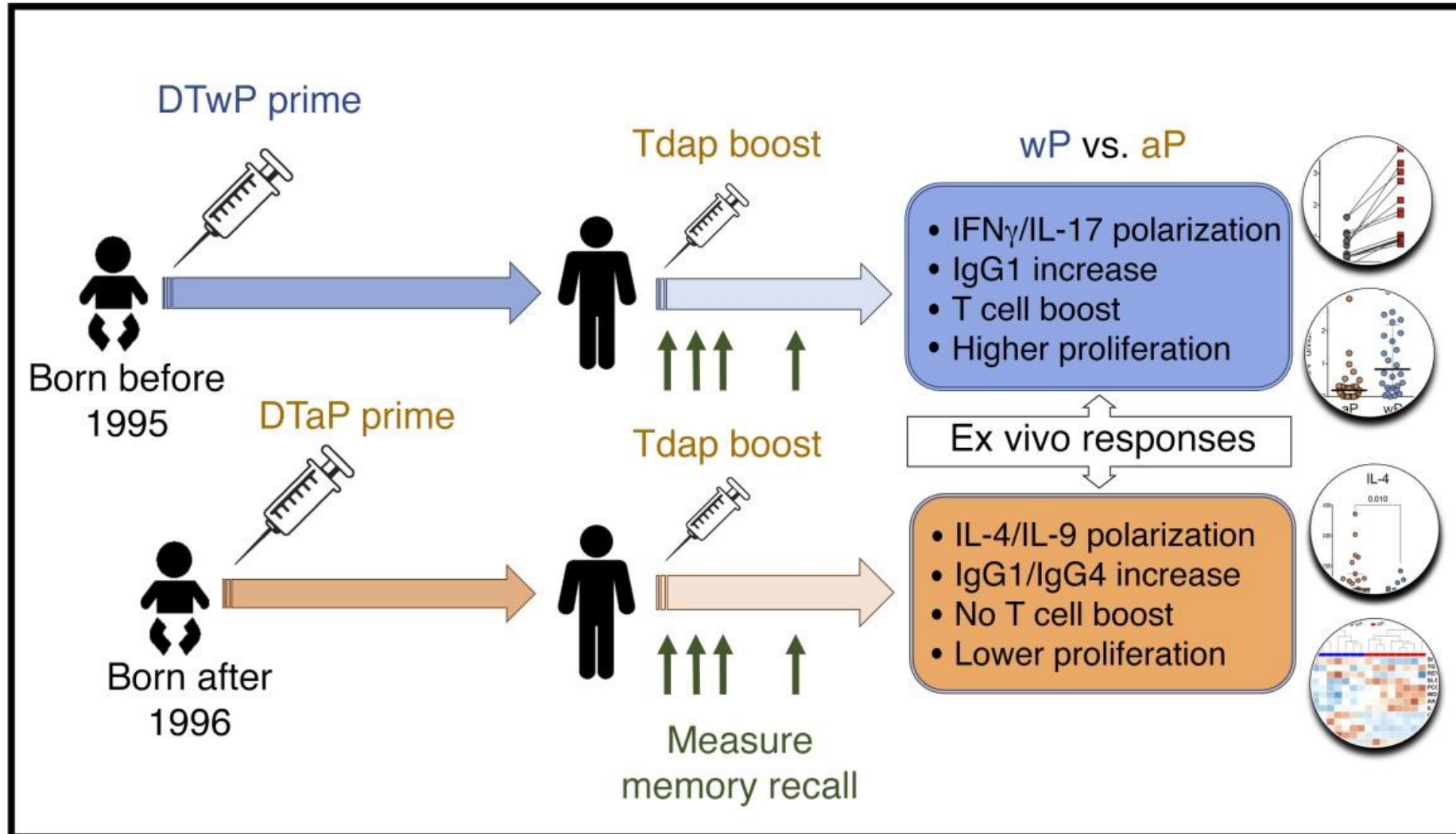
Vaccine platforms, technology, targets to improve and/or replace aP vaccines

- **Overview of pertussis**
 - Current pertussis landscape and disease burden (CDC)
 - Epidemiology and vaccination (Edwards)
 - Modeling effectiveness and durability of vaccination (Rohani)
- **Basic research strategies**
 - Impact of genetic diversity and evolution (Harvill)
 - Durable vaccine immunity (Dubey)
 - Correlates of immunity and immunological memory (**Mills**)
- **Translational research strategies**
 - Landscape of novel vaccine targets (Damron)
 - Innovative vaccine technology platforms (**Sebo**)
- **Clinical research strategies**
 - Adjuvants to elicit persistent memory (Evans, Kedl)
 - Predictive in vitro assays (Pasetti)
 - Predictive pre-clinical animal models (Merkel)
 - Roles of human challenge (PERISCOPE?)

Na rozdíl od přirozené infekce a primovakcinace celobuněčnou vakcínou, aP vakcína polarizuje na Th2 cytokinový profil a neumožňuje efektivní přeočkování

Th1/Th17 polarization persists following whole-cell pertussis vaccination

da Silva Antunes *et al.* (2018). [J Clin Invest.](#) 2018 Aug 31;128(9):3853-3865.



Hlavním problémem současné acelulární pertusové (aP) vakcíny je její antigenní složení a použité hliníkové adjuvans

Životy-zachraňující složkou aP vakcíny je pertusový toxoid (PT):

A) PT v hexavakcíně je PT inaktivovaný formaldehydem a zesíťovaný glutaraldehydem:

- 80 % epitopů pro PT-neutralizační protilátky PT je zničeno...
- Toxoid má zhroucenou strukturu a chemická modifikace vytváří mnoho NEUŽITEČNÝCH epitopů, které nejsou v nativním PT...
- Síťování glutaraldehydem brání prezentaci peptidů PT na HLA molekulách antigen-prezentujících buněk
 - slabá indukce pomocných CD4⁺ T buněk a mizerná B-buněčná paměť
- Imunizace takovým PT vede k „antigennímu hříchu“ a po opakovaném podávání vzniká stále větší množství NEUŽITEČNÝCH protilátek, které blokují přístup UŽITEČNÝCH PT-neutralizujících protilátek (linked epitope suppression)
- Mnohonásobně opakované podávání takového PT potlačuje schopnost organismu odpovědět na přeočkování neutralizačními protilátkami proti nativnímu toxinu v případě infekce... OCHRANA PO 6-TÉ DÁVCE JE HORŠÍ NEŽ PO 5-TÉ DÁVCE...

B) Hliníkové adjuvans hexavakcíny (alum), polarizuje odpověď na Th2 profil (IL-4, IL-5 a IgG4 protilátky)

- Infekce a celobuněčná (wP) vakcína ale polarizují na Th1/Th17 profil a tvorbu IgG1 a IgG3
- Infekce a wP plná endotoxinu a jiných TLR ligandů (DNA, RNA, lipoproteiny atp...) umožňují vznik tkáňově-rezidentních paměťových Th1 a Th17 buněk (Trm), které migrují do respirační sliznice
- V případě infekce Trm buňky sekretují IFN γ a IL-17 a aktivují a přivolávají PMN a makrofágy
 - IL-17 je klíčový pro sekreci antimikrobiálních peptidů, transcytosu polyreaktivních sIgA, chemotaxi PMN a makrofágů
 - Adoptivní přenos IL-17-sekretujících CD69⁺ Trm buněk ochrání myš před infekcí *B. pertusis* = BEZ PROTILÁTEK!!!

Trochu čerstvého čtení pro zájemce:

Kapil P. and Merkel TJ.:

Current Opinion in Immunology 2019, 59:72–78

Pertussis vaccines and protective immunity

Wilk M.M., Borkner L., Misiak A., ... and Kingston H. G. Mills:

Emerging Microbes & Infections 2019, VOL. 8, <https://doi.org/10.1080/22221751.2018.1564630>

Immunization with whole cell but not acellular pertussis vaccines primes CD4 T_{RM} cells that sustain protective immunity against nasal colonization with *Bordetella pertussis*

Esposito *et al.*, Frontiers in Immunology: July 2019 | Volume 10 | Article 1344

Pertussis Prevention: Reasons for Resurgence, and Differences in the Current Acellular Pertussis Vaccines

Více-méně asymptomatická – nedagnostikovaná - infekce a přenos pertuse je nejspíše mnohem častější, než jsme si donedávna uměli představit

Podle anti-PT sérologie byla reálná **incidence pertuse u dospělých** v letech **2011-2012**, před epidemickým rokem 2014, byla **~699/100 000**

pouhé 1 % z toho bylo diagnostikováno a hlášeno?

Chlíbek *et al.* (2017). Public Health **150**:77-83

Seroepidemiology of whooping cough in the Czech Republic: estimates of incidence of infection in adults

Některé zahraniční práce odhadují incidenci více-méně asymptomatických přenašečů *B. pertusis* až na 3 – 6 % a každý z nás se patrně nakazí tak jednou za 6 – 10 let...

20 % dospělých dlouho kašlajících bez zjevné příčiny má pertusi???

Více než 75% případů diagnostikovaného dávivého kašle dnes představují starší 15 let

John A. Zambrano, M.D. & Talia N. Herman, M.D. (2018) N Engl J Med 378; e3 January 18, 2018

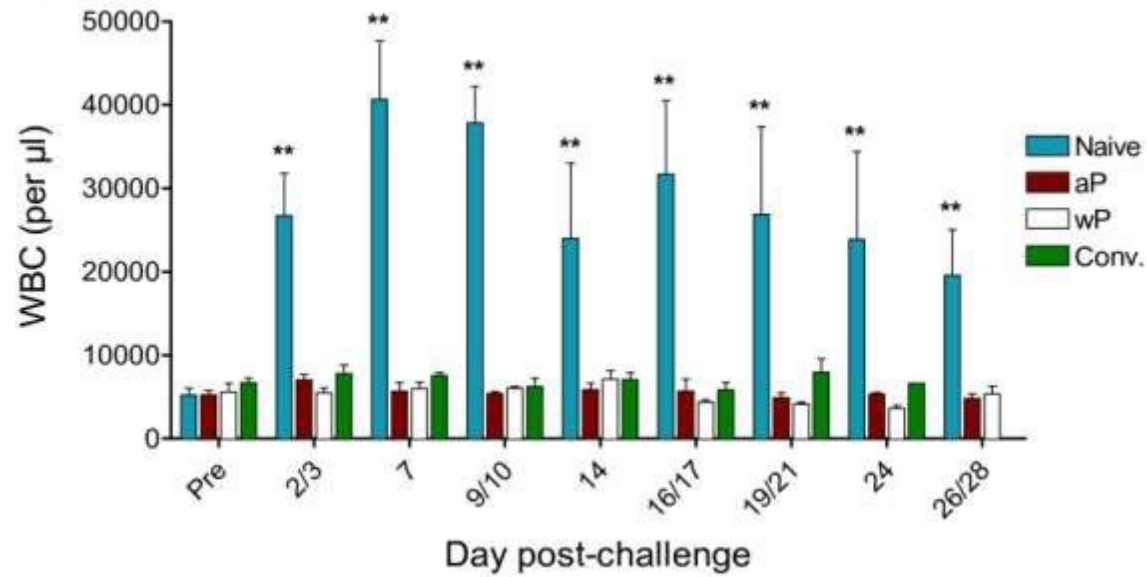
Rib Fracture Associated with *Bordetella pertussis* Infection



- paní 66 let, k praktickému lékaři přišla po 2 týdnech suchého kašle s ostrou bolestí pravého boku
- 5 dní předtím diagnostikována s virózou horních cest dýchacích - podpůrná léčba - kašel nepolevil
- Ohromná podlitina (vlevo) – bolestivé na dotek na pravé straně hrudníku
- CT odhalilo dislokovanou zlomeninu 9-tého pravého žebra (červená šipka)
- Paní neutrpěla úraz, nebyla v kontaktu s pacientem DIAGNOSTIKOVANÝM s pertusí
- 8 let předtím dostala TdaP
- Kultivace z nasofaryngálního stěru odhalila infekci *Bordetella pertussis*
- Paní, její okolí a zdravotníci dostali azithromycin a žebro ji bylo operativně ošetřeno...

aP zachraňuje životy tím, že chrání proti kritické hyperleukocytose a pneumonii

Warfel, Zimmermann and Merkel (2014) PNAS 111(2): 787–792

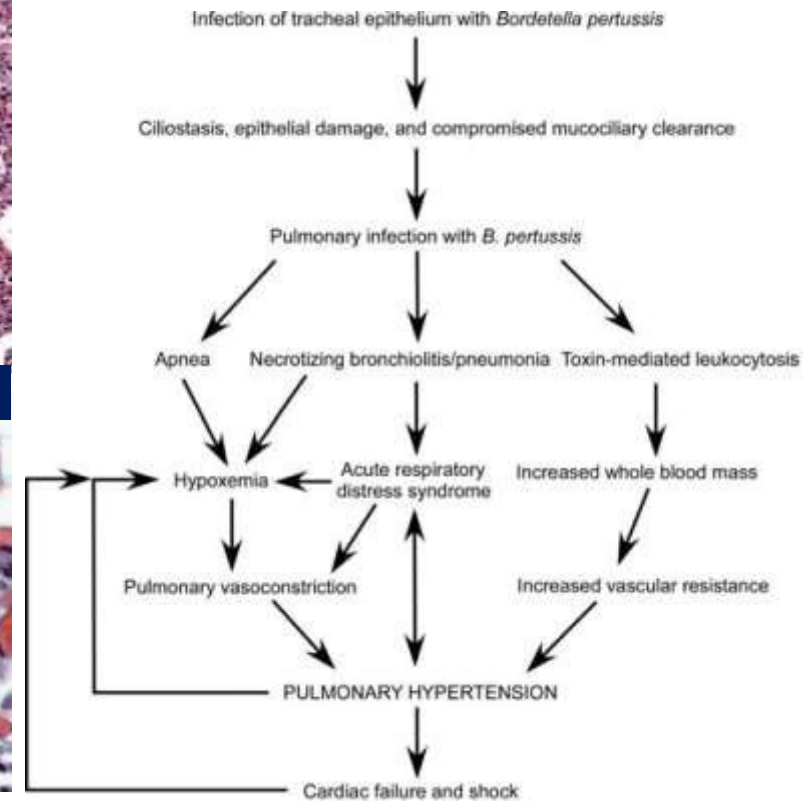
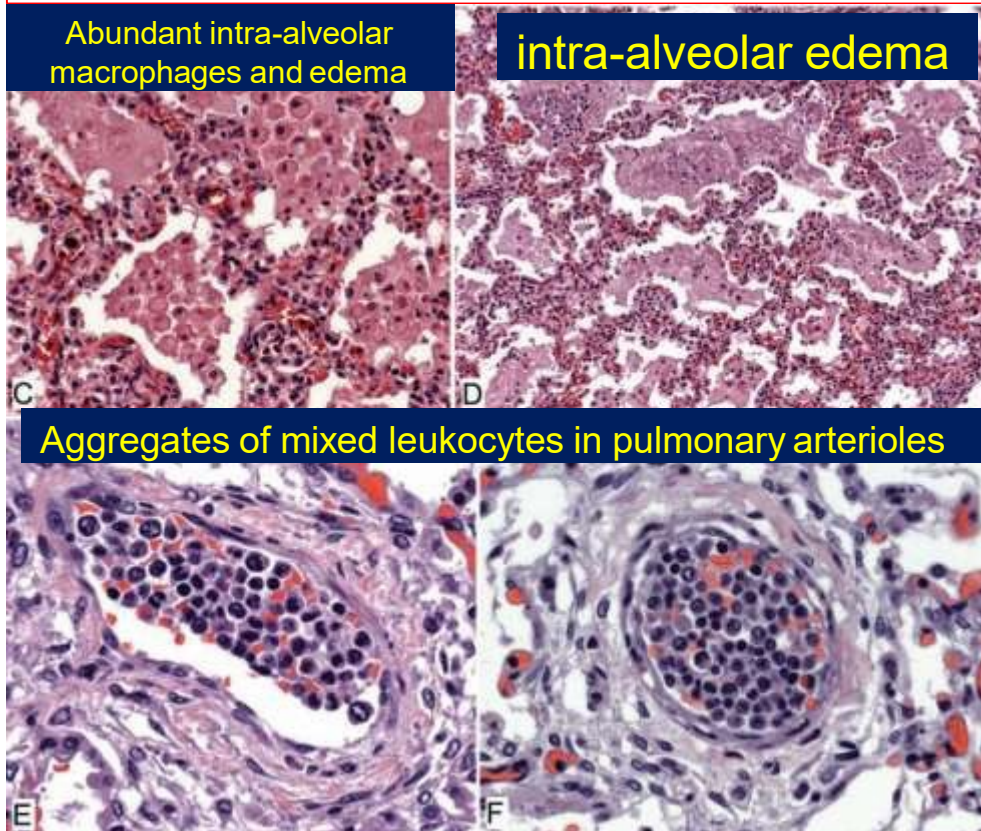


aP vakcína zachraňuje životy kojenců, neb maternální imunizace Tdap a primární očkovací série chrání proti účinkům pertusového toxinu (PT)

Paddock *et al.* Clinical Infectious Diseases 2008; 47:328–38

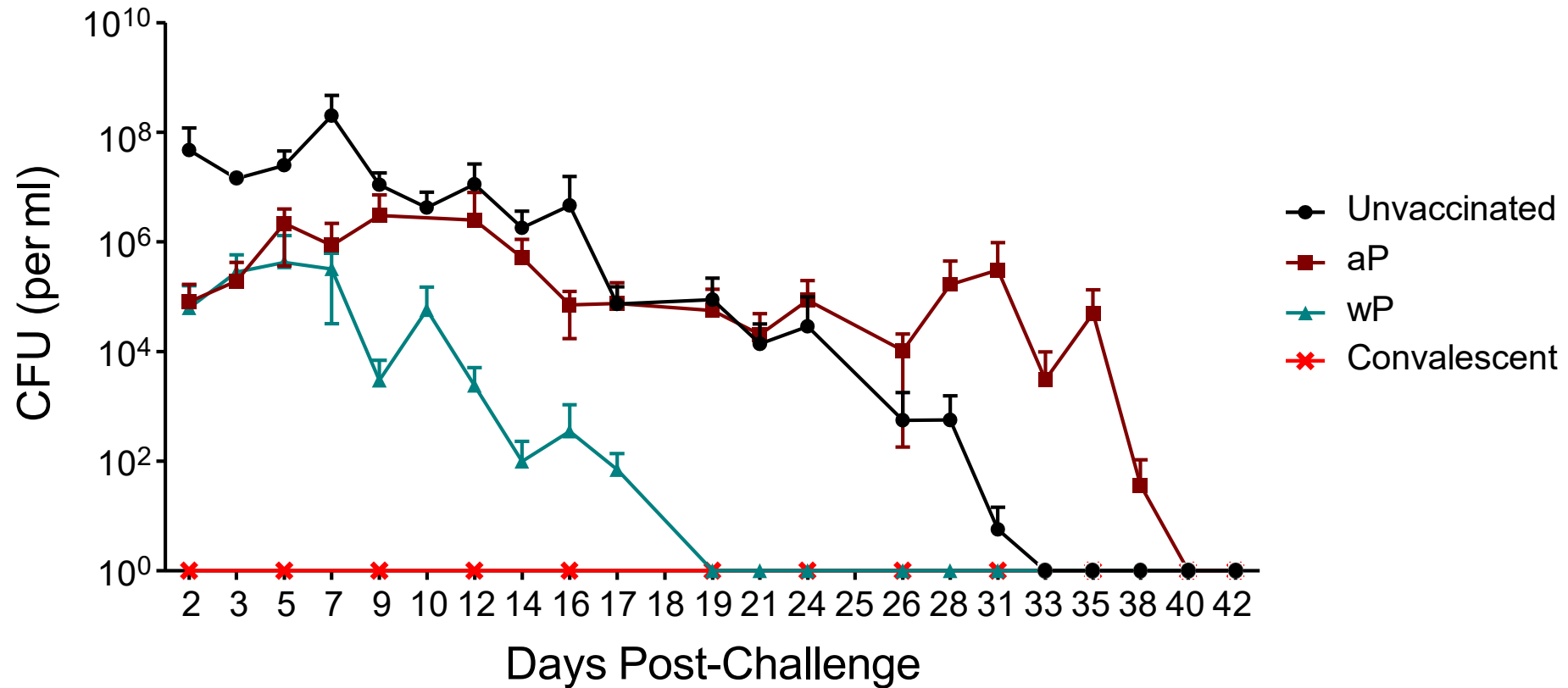
Pathology and Pathogenesis of Fatal *Bordetella pertussis* Infection in Infants

Refractory pulmonary hypertension, leading to cardiac failure and shock, is now recognized as a frequent problem in infants with fatal pertussis

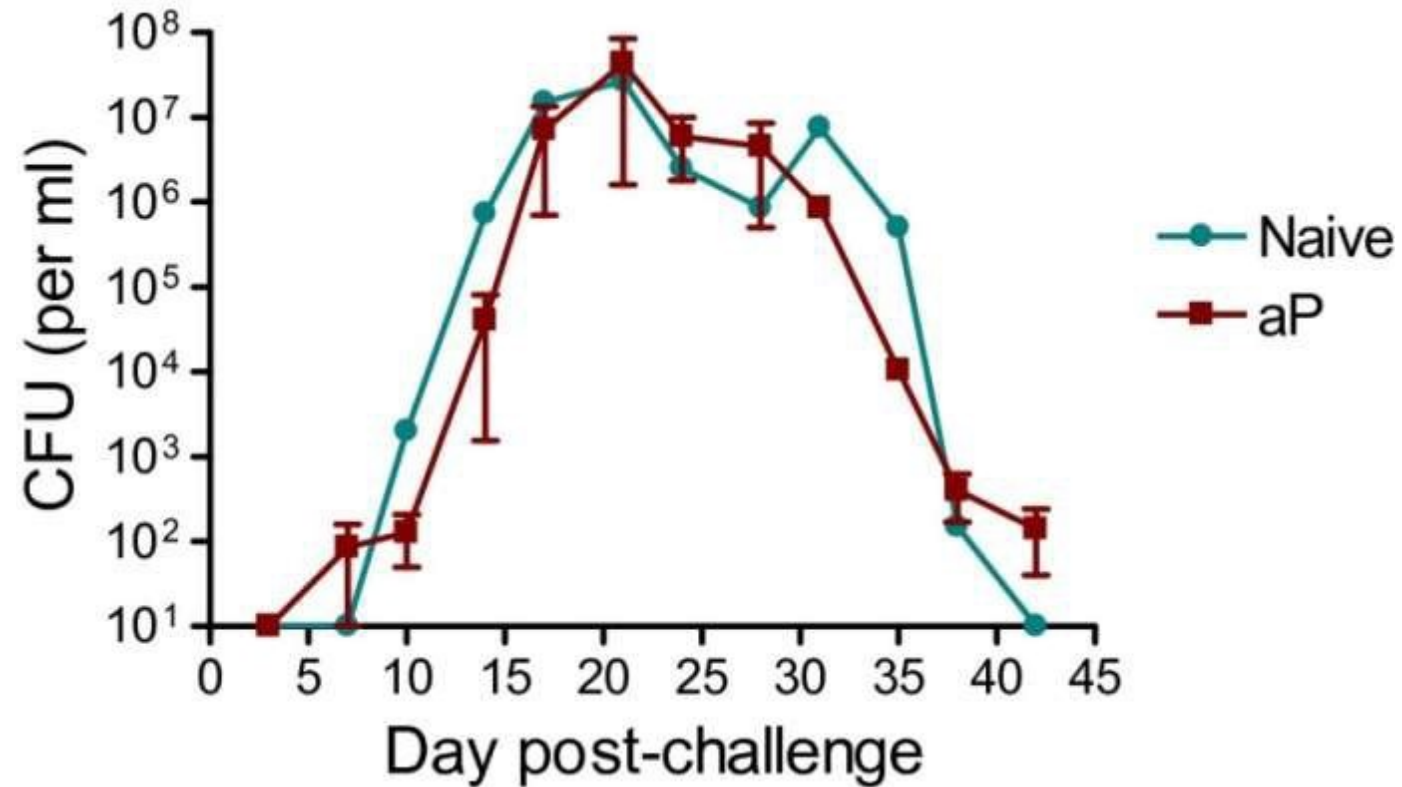


wP vakcína chrání před infekcí, aP nikoliv...

Odstavená paviání mláďata byla infikována přímo do trachey 10^9 CFU *B. pertussis* na FDA
= aP očkovaní paviáni jsou kolonizováni déle než naivní zvířata...
= velké množství evidence ukazuje, že u lidí je to podobné...



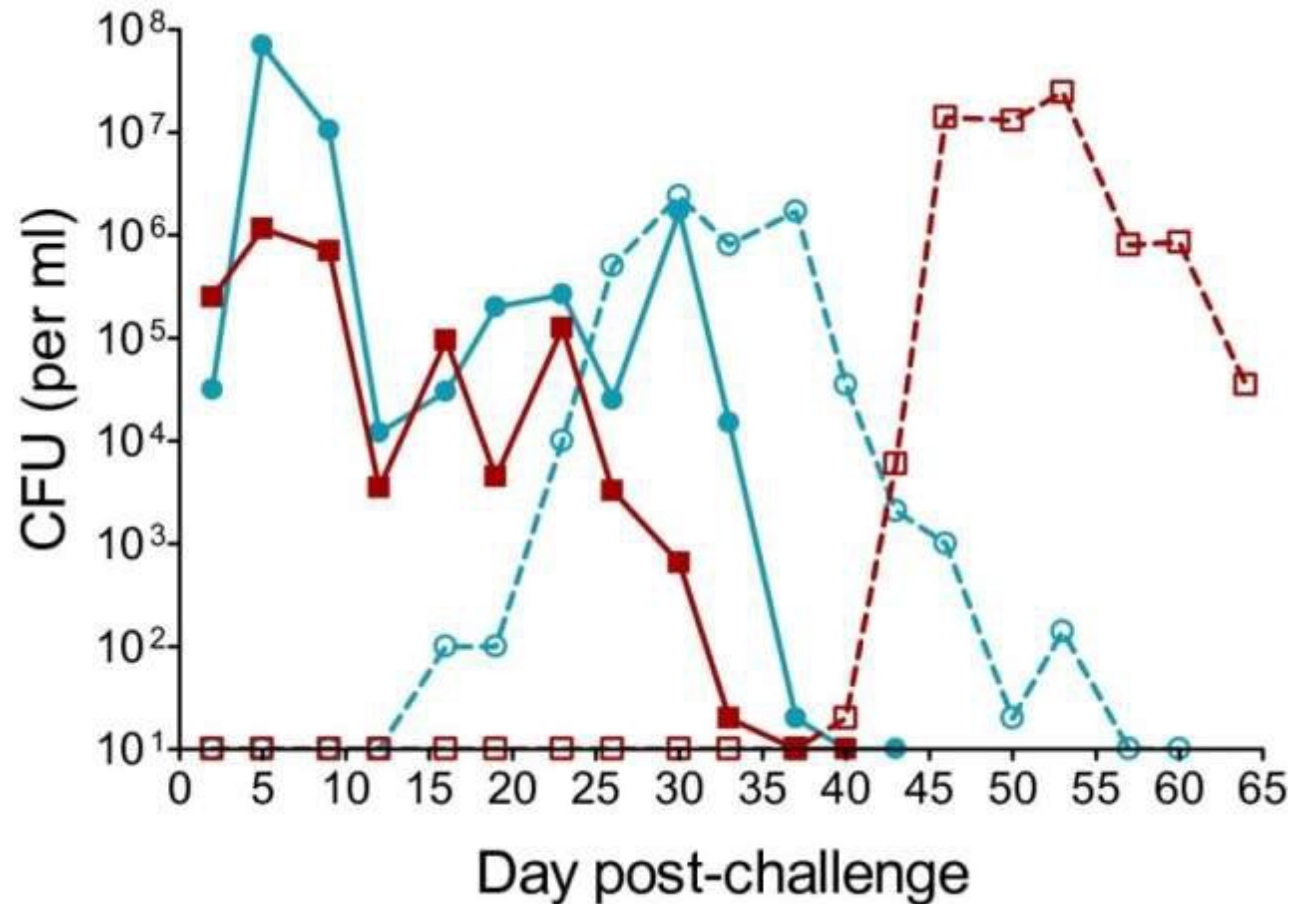
aP nechrání proti infekci *B. pertusis* od nakaženého jedince



A naïve animal was directly challenged and 24 h later a naïve animal and two aP-vaccinated animals were placed into the same cage as the directly challenged animal. Their colonization was then followed.

Infikovaný aP-očkováný jedinec může předat pertusi kontaktům

Warfel J M et al. PNAS 2014;111:787-792



Two animals vaccinated with aP were housed in separate cages, and each was directly challenged. Twenty four hours after challenge, an unchallenged naïve animal was placed in each cage. All animals were followed for colonization. One cage pairing is shown with turquoise lines with circles, and the other is shown with maroon lines with squares. Solid lines with closed symbols indicate the aP-vaccinated, directly challenged animals, and open symbols with dashed lines are used for the unchallenged, naïve contacts.

6. 4. 2015

Doporučení pro očkování těhotných proti pertusi v České republice

Doporučení Národní imunizační komise (NIKO) pro očkování těhotných žen proti pertusi v ČR.

<http://www.szu.cz/tema/prevence/doporuceni-narodni-imunizacni-komise-niko-pro-ockovani>

http://www.mzcr.cz/Verejne/obsah/doporuceni-pro-ockovani-tehotnych-proti-pertusi-v-ceske-republice_3249_5.html

Doporučení pro těhotné:

Těhotné je doporučeno **očkovat jednou dávkou kombinované vakcíny proti pertusi**, difterii a tetanu (Tdap) během (každého) těhotenství, **ideálně mezi 28. a 36. týdnem těhotenství**.

Tdap - vakcína se sníženým množstvím difterického toxoidu, s tetanickým toxoidem a acelulární pertusovou složkou.

Registrované očkovací látky:

Adacel / Adacel Polio – výrobce Sanofi Pasteur, vakcína proti difterii, tetanu a pertusi (acelulární), (adsorbovaná se sníženým obsahem antigenů)

Boostrix / Boostrix IPV – výrobce GSK, vakcína proti difterii, tetanu a pertusi (acelulární komponenta) se sníženým obsahem antigenů

Hlavním cílem u očkování v těhotenství je chránit nejmenší děti **prostřednictvím** posílení **mateřských protilátek**. Hladina mateřských protilátek je považována za nejdůležitější faktor ochrany kojenců před onemocněním. Většina žen byla v dětství proti pertusi očkována nebo pertusí onemocněla. Očkování ani prožité onemocnění však neposkytuje celoživotní ochranu. **Očkování v posledním trimestru těhotenství proti pertusi dočasně zvýší ochranné mateřské protilátky, které přechází od matky přes placentu jejímu nenarozenému dítěti.** Přenesené mateřské protilátky **pasivně chrání dítě v prvních dvou měsících života, než může být očkováno proti pertusi.** Nebylo prokázáno zvýšené riziko vedlejších reakcí po Tdap vakcinaci u těhotných žen ve třetím trimestru a ani u jejich dětí.

Co s tím až se situace v ČR zhorší:

- Než budou registrovány nové pertusové vakcíny chránící také před infekcí a kolonizací bakteriemi *Bordetella pertussis* a *B. parapertussis*, tedy před šířením infekce, nezbyvá nám, než:
 - a) **Systematicky očkovat všechny těhotné ve třetím trimestru, mezi 27. a 36. týdnem gravidity:**
 - Mateřské protilátky proti PT budou zase zachraňovat životy kojenců, až se epidemiologická situace vyhrotí (~10 let)
 - Dosahovat maximálně možného pokrytí hexavakcínou
 - b) **Používat současnou hexavakcínu, protože díky obsahu toxoidu PT zachraňuje životy kojenců...**

Co budeme dělat, když přestane fungovat maternální imunizace žen, které již dostali 6 dávek aP vakcíny a neodpoví tvorbou PT-neutralizujících protilátek???

A místo toho vytvoří přehršle IgG4 isotypových protilátek bránících neutralizaci nativního PT u infikovaného kojence...

Hlavním problémem současné aP vakcíny je antigenní složení a adjuvans

- Naděje na brzkou změnu pertusové složky hexavakcíny a výměnu adjuvans je mizivá
- Znamená to vyvinout a registrovat zcela novou hexavakcínu...
- Není kde provést placebem-kontrolovaný test účinnosti
- Nejasné podmínky registrace
- Příliš velké riziko pro výrobce v situaci, kdy aP zachraňuje životy kojenců...
- Pertusová morbidita adolescentů a dospělých není dostatečným tlakem na změnu
- Tdap booster vakcína se skvěle prodává, jakkoliv epidemiologickou situaci spíše zhoršuje...
- Částečným řešením může být použití Tdap boosteru s IPV, kde nukleová kyselina IPV (sRNA) má adjuvantní účinek, signalizuje přes TLR7 (Boostrix-IPV, Adacel Polio)

MY RECOMMENDATION for inducing mucosal immunity in the nasopharynx and Th₁/Th₁₇-polarized T_{rm} against *B. pertusis*:

A) Co-administer a novel intranasal = mucosal pertussis vaccine during the same aP hexa(penta)-vaccine shot visit of the pediatrician:

1. **Non-adjuvanted wP** works in humans **as a nasal vaccine** that triggers crossreactive IgA and T cells (Berstad et al. J. Med. Microbiol. — Vol. 49 (2000), 157–163; Berstad et al. Vaccine 18 (2000) 2323-2330)
2. **Non-adjuvanted wP** at high dose was used **as oral vaccine** in a large clinical trial in Austria (**20,000 newborns**) as a safe and efficacious vaccine inducing mucosal immunity (Baumann *et al.* 1984, Develop. biol. Standard. Vol. 61, pp. 511-516 (S. Karger, Basel, 1985)
3. **Live attenuated *B. pertusis* BPZE1 nasal vaccine** is now advancing into phase II trial in US, could be given in parallel to the i.m. shot
4. **Various formulations nasal aP vaccines (e.g. chitosan-encapsulated wP or aP)**, with genetically detoxified PT as mucosal adjuvant (OMV+PT+CyaA), a supplemented aP (gdPT+PRN, FHA+FIM2/3+Tcf+dVag8+BrkA+BipA+FauA...) ((Zurita *et al.* 2019, Front Cell Infect Microbiol. 2019 Apr 26;9:125; Allen *et al.* Mucosal Immunol. 2018 Nov;11(6):1763-1776; Shi *et al.* 2018, Immunol. Lett. 198: 26-32; Walke *et al.* 2018, Int. J. Biol. Macromol. 107:2044–2056; Jabbal-Gill *et al.* 1998, Vaccine, Vol. 16, No. 20, pp. 2039-2046).

B) **Introduce a hexa(penta)vaccine containing a reduced reactogenicity wP to EU and US** that would induce comparable protection and trigger airway mucosa-homing and Th1/th17-polarized protective T_{rm} – tissue-resident memory T cells (Wilk *et al.* 2019. Emi)

Dva pravděpodobné scénáře vývoje

A. Postupný vývoj široké skupinové slizniční imunity proti infekci, díky plošnému zavedení vakcíny Hexacima (pouze PT+ FHA), která již prakticky vůbec nechrání před infekcí a kolonizací patogenem. Bude docházet k masivní cirkulaci *B. pertussis*, především v dětských kolektivech:

- 1) Již u zdravých dětí očkovaných wP vakcínou byl po nástupu do školy pozorován nárůst anti-PT protilátek - svědčící o asymptomické infekci v kolektivu.
- 2) Předškoláci a školáci se infikují velice brzy po nástupu do kolektivu, ale díky protilátkám proti PT nebudou příliš nemocní.
- 3) Postupně si v důsledku opakovaných infekcí vytvoří solidní úroveň slizniční imunity a vrátíme se do „predvaccinační éry“, kdy pertuse byla výhradně dětským onemocněním a dospělí byli pravidelně imunizováni infekcí od dětí.
- 4) **V přechodném období budou slabší dospělí jedinci mít smůlu a projdou si brutálními epizodami dávivého kašle díky vyvanulé imunitě po wP očkování a zatím nedostatečné imunizaci boostovací infekcí.** Dočkáme se těžkého průběhu u dospělých, seniorů a invalidit, možná i několika úmrtí dospělých???
- 5) **Pokud dosáhneme vysokého stupně očkování těhotných a vysokou proočkovanost kojenců, úmrtnost kojenců zůstane nadále velice nízká**

B. Opakované epidemie dávivého kašle v intervalech 3 – 6 let???, díky plošnému zavedení vakcíny Hexacima (pouze PT+ FHA) a masivní cirkulaci patogena budeme v intervalech 3-6 let svědky pravidelných epidemií dávivého kašle

Děkuji za pozornost!

Dotazy?

Literatura – Gaillard et al. *Pathogens and Disease* 2015 Nov;73(8). doi: 10.1093/femspd/ftv059

- US in 2012 - highest outbreak since 1955 - 48,277 - 20 pertussis-related deaths.
- Incidence rates highest in 7 to 10 year-old children
- In Europe a notable outbreak in the UK - 10,000 laboratory-confirmed cases and 14 infant deaths
- In Australia, resurgence of pertussis in 2008-2012 in children 2-4 year olds and 7 to 9 year olds. Causes:
 - **waning immunity** (Wendelboe, *et al.*, 2005, Witt, *et al.*, 2013, Clark, 2014)
 - **vaccine failure to induce sterilizing immunity** and prevent transmission (Warfel, *et al.*, 2014).
 - **selection of escape strains** (Mooi, *et al.*, 2001, Lam, *et al.*, 2014, Pawloski, *et al.*, 2014)
- **meta-analysis of the duration of protective immunity after aP** (McGirr & Fisman, 2015) - estimated average duration of **vaccine protection from aP is ~3 years**, assuming 85% vaccine efficacy
- **odds increase by 1.33 times per year** (95% confidence interval: 1.23–1.43) for additional year since the last dose of aP.
- Pathogen adaptation - within approximately two decades, strains with **ptxP3 allele** have nearly completely **replaced the ptxP1 strains** (Advani, *et al.*, 2011, Lam, *et al.*, 2012, Petersen, *et al.*, 2012, Schmidtke, *et al.*, 2012, Mooi, *et al.*, 2014) and **produce more Ptx in vitro** and also pertactin (Prn) and a number of other virulence genes, including a **type III secretion toxin and Vag8, a protein involved in complement resistance**.
- Important increase in *B. pertussis* isolates that **do not produce PRN** (Pawloski, *et al.*, 2014, Tsang, *et al.*, 2014). I
- **aP vaccinated** baboons can become **asymptomatically infected** and readily **transmit *B. pertussis*** at the same rate as naïve controls (Warfel, *et al.*, 2014)
- wP vaccination induced a more rapid clearance compared with naïve and aP-vaccinated animals (Warfel, *et al.*, 2014)
- **Differences in T-cell immunity** between **wP-vaccinated animals - Th17/ Th1 memory**, whereas **aP vaccination mainly induced a strong Th2 response** instead correlating with situation in humans (Fedele, *et al.*, 2010, Higgs, *et al.*, 2012).
- T cell memory in adolescents primed with either wP or aP show that the **Th1 response remained stronger in adolescents primed with wP compared to aP** (Smits, *et al.*, 2013).
- It was hypothesized that **Th1 cells promote the production of protective opsonizing anti-bodies** following pertussis vaccination and infection **by inducing IgG class-switching** in B cells (Ross, *et al.*, 2013).
- **aP induces Th2 and Th1 responses in children and no significant Th17 responses** (Schure, *et al.*, 2012, Schure, *et al.*, 2013)

Proč jsou acelulární pertusové vakcíny problém – I.

- aP byla zaregistrovaná díky velmi přísné definici klinického případu pertuse a díky srovnávání s nejméně účinnou wP vakcínou, kterou se podařilo najít ... (viz Cherry JD – řada publikací)
- aP vakcína byla vyvíjena na myším modelu, který nereflektuje lidskou patofysiologii...
- Asymptomatická a nedagnostikovaná kolonizace až ~6% dospělých (**Cherry JD. Expert Rev Vaccines. 2014 Sep;13(9):1073-80**)
- až 15% dlouhotrvajícího kašle u dospělých má etiologii *B. pertussis* = **mnohem masivnější cirkulace patogena než si kdokoliv z nás donedávna myslel**
- Omezené spektrum antigenů v acelulární vakcíně (PT, PRN, FHA + FIM2/3)
- neexistuje evidence z klinických zkoušek, že FHA něčemu pomáhá ve vakcíně..., současné izoláty v USA neprodukují PRN – jediný antigen aP3 vakcíny indukující opsonizující protilátky (v aP5 vakcíně to jsou také antigeny Fim2/3, ale bohužel denaturované a v nízké koncentraci...)
- aP chrání proti kritické hyperleukocytose a pertusové pneumonii u nejmenších (díky anti-PT protilátkám), ale poskytuje mizernou ochranu proti infekci a kolonizaci *B. pertussis*
- aP zachraňuje životy kojenců, ale evidence, že snižuje výskyt dávivého kašle je slabá...

Proč jsou acelulární pertusové vakcíny problém – II.

- aP Indukují v lepším případě Th1/Th2 cytokinový profil, horším případě vyloženě Th2 profil a ne Th1/Th17 – **neindukují slizniční IgA**
- **Velmi krátká imunologická paměť T a B buněk = ochrana max. 5 let, v průměru ~3 roky...**
- Selektce kmenů neprodukujících antigeny aP vakcíny = **~100% izolátů B. pertussis v USA již neprodukuje PRN** – jediný antigen aP₃ vakcíny indukující opsonizující protilátky (Infanrix)... V Pediacelu jsou ještě Fim2/3, které indukují opsonizující protilátky (v EU zatím lepší stav), Ve vakcíně Hexacima již je jen PT a FHA... Bude zle...
- Čím více se Tdap vakcína bude používat k přeočkování adolescentů a dospělých, tím vše bude jenom horší... = zvyšuje se tlak na selekci kmenů neprodukujících PRN, FHA, nebo i PT...
- **Řada klíčových faktorů virulence není neutralizována protilátkami indukovanými aP vakcínou**
- Cílem baktericidních protilátek je především LOS, který v aP není...

Co s tím?

- **Přidání dalších antigenů do aP vakcíny:**
 - LOS antigeny formou konjugátu s PT nebo OMV
 - Receptory nutné pro utilizaci sideroforů a hemu – klíčové antigeny!
 - Faktory rezistence ke komplementu (BrkA, Vag8, kapsulární polysaccharid)
 - Adenylát-cyklázový toxoid (Serum Institute of India)

- Nicméně, má to smysl purifikovat dříve další komponenty a sestavit z nich původní bakteriální antigenní mix ...?

- Vývoj a registrace nové vakcíny je na 10 let a \$0,5 mld. USD...
- **Velký problém je, že není kde provést fázi III (test účinnosti), všude se očkuje...**
- **Návrat ke geneticky upravené celobuněčné vakcíně se sníženou reaktogenicitou a vysokou antigenicitou:**
 - Snížení pyrogenicity LOS pomocí genetické modifikace
 - Detoxifikace PT tak aby si zachoval vysokou antigenicitu
 - Odstranění faktorů způsobujících lokální reakce
 - Optimalizace výrobního procesu – snížení obsahu volného endotoxinu a dalších pyrogenů ve vakcíně
 - Batch –to–batch consistency = **zajistit vyrovnanou kvalitu jednotlivých šarží vakcíny...**

Potřebujeme 4 nové typy vakcín

- Vakcínu pro imunizaci gravidních žen
 - Nejspíše pouze geneticky modifikovaný toxoid PT
- Vakcínu pro primární imunizaci kojenců
 - Která poskytne dlouhodobou ochranu
- Vakcínu pro přeočkování adolescentů a ‘cocooning strategii’
 - Která poskytne ochranu proti infekci a přenosu infekce
 - Ideálně to má být mukozální vakcína navazující sterilizující imunitu na sliznici (živá atenuovaná *B. pertussis* (např. BPZE1 od Iliad Biotechnologies))

2018 – infekční experiment na dobrovolnících v rámci projektu IMI-2 PERISCOPE na University of Southampton

- Dobrovolníci očkovaní v dětství wP
- S nízkou hladinou anti-PT protilátek
- Nebyli nikdy diagnostikováni s dávivým kašlem ani nebyli v kontaktu s pacientem s pertusí
- Cca 50% dobrovolníků je odolná proti intranasální experimentální infekci až 50 000 CFU *B. pertussis*
- Přitom u naivního jedince je infekční dávka vedoucí k onemocnění kolem 150 CFU
- = vysoká míra circulace patogena v populaci a re=infekce každých 6 – 10 let vede ke slizniční imunitě chránící značnou část wP-očkované populace

De Graaf *et al.* (2019) Clin Infect Dis. 2019 Sep 28. pii: ciz840. doi: 10.1093/cid/ciz840.